Aus dem Tiergesundheitsamt
bei der Landesbauernschaft Rheinland, Hauptabteilung II, Bonn.
Direktor: Dr. Eickmann.

Lane Medical Library

Vergleichende Untersuchungen über den Nachweis von Brucella abortus in Einzel- und Gruppenmilchproben.

Inaugural-Dissertation
zur
Erlangung der Würde
eines
doctor medicinae veterinariae
durch die
Veterinär-medizinische Fakultät der Universität Gießen.

Vorgelegt von
Johannes Fuest
appr. Tierarzt aus Dössel.

Gießen 1935

Buch- und Kunstdruckerei Wilh. Postberg, Bottrop i.W.
1935

Tag der mündlichen Prüfung: 29. Januar 1935.

Referent: Prof. Dr. Zwick.

Gedruckt mit Genehmigung der Veterinär-medizinischen Fakultät der Universität Gießen.

Inhalt.

Seite

A. Einleitung 1

B. Schrifttum:

I. Vorkommen und Nachweis der Brucella abortus in der Milch 3

II. Die Kultur der Brucella abortus 7

C. Eigene Untersuchungen:

I. Serologische Untersuchungen des Blutes 10

a) Agglutination;

b) Komplementbindung.

II. Serologische Untersuchung der Milch 12

III. Kulturelle Untersuchung der Milch 14

IV. Tierversuch:

a) Infektion der Meerschweinchen 15

b) Serologische Untersuchung 15

c) Sektion und Kultur der Brucella abortus aus den Organen 16

D. Untersuchungsbefunde:

I. Untersuchung der Milchproben ohne zugehörige Blutproben . 17

II. Untersuchung der Milchproben mit zugehörigen Blutproben . 23

E. Gesamtergebnis:

I. Serologische Ergebnisse 30

II. Tierversuch 31

III. Kulturelle Ergebnisse 32

F. Schlußsätze 33

Schrifttum 35

Digitized by the Internet Archive
in 2026

https://archive.org/details/IA40154009_0118

A. Einleitung.

Seit der Jahrhundertwende hat in den Rindviehbeständen fast aller Länder die Verbreitung des seuchenhaften Verwerfens der Rinder ungeheure Ausmaße angenommen. Von Götze wird der Verlust, der der deutschen tierzuchttreibenden Landwirtschaft alljährlich durch Zuchtschäden, Kälber-, Milch- und Fleischverluste infolge der Infektion der Bestände mit Abortus-Bang erwächst, vorsichtig auf 70 000 000 RM geschätzt. Dazu tritt noch die Gefahr der Übertragung der Krankheit auf den Menschen durch Kontaktinfektion oder aber durch den Genuß roher Milch abortusinfizierter Kühe. Gerade in jüngster Zeit mehren sich die Fälle, wo Menschen durch den Genuß roher Milch von abortuskranken Tieren meistens unter den Erscheinungen eines langwierigen Wechselfiebers erkranken. Dieser Gefahr hat das neue Reichsmilchgesetz Rechnung getragen, wonach es in Bezug auf Abortus-Bang verboten ist, „Milch von Kühen, die infolge einer Infektion mit dem Abortus-Bazillus-Bang erkrankt sind, oder den Erreger mit der Milch ausscheiden", ohne ausreichende Erhitzung in den Verkehr zu bringen. Demnach ist der Nachweis der Brucella-Abortus in der Milch für die Durchführung der gesetzlichen Bestimmungen betreffs der Milchüberwachung von größter Wichtigkeit. Dieser Nachweis der Brucellen in der Milch kann auf zweierlei Art und Weise geschehen. Und zwar erstens direkt durch Züchtung der Bakterien aus der Milch auf geeigneten Nährböden oder durch Injektion der verdächtigen Milch an Meerschweinchen, bei denen man dann nach gewisser Zeit die Brucellen entweder direkt aus den Organen (Milz, Lymphknoten, Leber) züchten kann, oder aber die spezifische Antikörper im Blutserum nachweist. Die zweite, indirekte Art des Nachweises ist die, daß man die spezifischen Antikörper im Blut- und Milchserum der infizierten Kühe feststellt und dann aus der Höhe des Antikörpergehaltes Rückschlüsse zieht auf den Grad der Abortus-Bang-Infektion und bezüglich der Milch, ob Bakterien ausgeschieden werden oder nicht. Beide Verfahren haben ihre Vorteile und ihre Nachteile. Die beste und auch schnellste Methode, die Bakterien nachzuweisen, wäre sicherlich die Kultur der Brucellen. Nach 3—4 Tagen könnte hiermit der sichere Nachweis erbracht werden. Aber die Kultur der Brucellen stellt an die Technik des Untersuchers größte Anforderungen, und auch dann ist diese Methode in Bezug auf ihre Sicherheit unzuverlässig. Bedeutend sicherere Ergebnisse liefert der Tierversuch. Dieser aber ist teuer und kann vor Ablauf von 4—6 Wochen nicht abgeschlossen werden. Wegen

der Unzulänglichkeit der Züchtung und der langen Dauer des Tierversuches hat man in jünster Zeit die serologische Methode zum Nachweis der Brucellaagglutinine in der Milch immer mehr in den Vordergrund gestellt und auch bestimmte Werte angegeben, in welcher Verdünnung das Milchserum noch als positiv und in welcher als negativ angesehen werden soll. Für die Untersuchung von Einzelmilchproben ist somit das Problem des schnellen und sicheren Nachweises der Brucellen in der Milch gelöst. Nun schreiben aber die gesetzlichen Bestimmungen über die Kontrolle der Vorzugs- und Markenmilchbestände vor, daß von Kühen mit klinisch gesundem Euter Gruppenproben von je 10 Kühen zu untersuchen sind. Es hat sich aber schon seit längerer Zeit bei den Milchuntersuchungen im Tiergesundheitsamt bei der Landesbauernschaft Rheinland, Hauptabteilung II, Bonn, gezeigt, daß diese Art der Untersuchung unzweckmäßig ist, und zwar aus hygienischen und wirtschaftlichen Gründen. Die Gruppenmilchprobe wird zur Untersuchung auf Abortus-Bang-Bakterien Meerschweinchen injiziert. Nach 6 Wochen kann man das Blutserum dieser Versuchstiere serologisch untersuchen. Bei positivem Ausfall ist aber die Milch der Kuh, die unter den 10 Tieren die Ausscheiderin ist, 6 Wochen im freien Verkehr gewesen. Jetzt werden die 10 Einzelproben entnommen. Der Impfversuch dauert wieder 6 Wochen, während dieser Zeit sind die Kühe von der Vorzugs- und Markenmilchgewinnung auszuschließen. Ja, der Besitzer müßte eigentlich die Milch von den 10 Kühen erhitzt abgeben. Das alles ist aber für ihn wirtschaftlich untragbar.

Bei den laufenden Untersuchungen im erwähnten Institut wurde bei der Kontrolle der Vorzugs- und Markenmilchproben festgestellt, daß nur in einem Teil der brucellenhaltigen Gruppenmilchproben sich Abortusagglutinine nachweisen ließen, die übrigen Proben reagierten negativ. Das läßt sich auch schon von vornherein durch folgende Überlegung erklären: Befindet sich z. B. in einer Gruppenprobe von 10 Kühen ein Tier, das aus einem Viertel Milch mit einem Agglutinationswert von 1 : 80 ausscheidet, so wird durch die Mischung die positive Milch so verdünnt, daß der Titer der Gesamtmilch rein rechnerisch nur noch bei 1 : 2 liegt. Dieses Tier kann man natürlich in der Gruppenmilchprobe serologisch nicht mehr erfassen. Dazu kommt noch, daß auch im Tierversuch erhebliche Differenzen bestehen zwischen den Ergebnissen des Brucellennachweises bei den Einzelmilchproben und den Gruppenmilchproben; insofern nämlich, als der Nachweis der Brucellen in der Gruppenmilch erheblich unsicherer ist.

Ziel und Aufgabe meiner Arbeit war es nun, festzustellen, mit der Milch von wieviel normalen Kühen man eine Milch mit bekanntem Agglutinationstiter mischen kann, um einmal serologisch noch zu positiven Ergebnissen zu kommen, und zweitens, inwieweit man bei Meerschweinchen mit dieser verdünnten Milch noch Abortus-Bang-Infektion hervorrufen kann.

B. Schrifttum.

I. Vorkommen und Nachweis der Brucella-Abortus in der Milch.

Nachdem Bang und Stribolt im Jahre 1896 den Erreger des seuchenhaften Verwerfens der Rinder, das Bacterium Abortus infectiosi bovis Bang entdeckt hatten, haben allenthalben Untersuchungen eingesetzt, um die morphologischen und kulturellen Eigenschaften und die pathogene Wirkung dieses Mikroben zu erforschen. Man glaubte zunächst allgemein, daß der Erreger sich nur im trächtigen Uterus, in den Eihäuten und im Labmagen der Foeten aufhalte. Aber schon im Jahre 1911 beobachteten Schröder und Cotton bei der Sektion von Meerschweinchen, die mit Milch intraperitoneal geimpft waren, öfters tuberkuloseähnliche Veränderungen, in denen sie jedoch die für Tuberkulose charakteristischen säurefesten Stäbchen nicht nachweisen konnten. Durch subcutane Injektion konnten sie diese Veränderungen auf weitere Meerschweinchen übertragen. 1912 gelang es dann den beiden Forschern in Verbindung mit Mohler, den sicheren Nachweis dafür zu erbringen, daß der Abortus-Bazillus-Bang als Erreger der fraglichen Organveränderungen anzusehen sei. Doch ließen sie noch die Frage offen, ob der Erreger nachträglich in die Milch gelangt sei, oder ob er schon im Euter natürlich infizierter Tiere vorhanden sei. Diese Frage haben Zwick und Krage endgültig geklärt. 1913 untersuchten sie die steril entnommene, makroskopisch unveränderte Milch von 3 Kühen, die vor 2 Wochen, 6 und 13 Monaten verkalbt hatten, auf das Vorhandensein von Abortus-Bazillen und konnten in jedem Falle diese durch das Kulturverfahren nachweisen.

a) Kulturelle Untersuchung der Milch.

Evans fand Abortus-Bazillen häufig in Kontrollmilch. Unter den aus 2 Kontrollmilchwirtschaften bezogenen Milchproben konnte sie in etwa 30 % auf kulturellem Wege Abortus-Bazillen nachweisen. Die Zahl der in 1 ccm Milch enthaltenen Keime schwankte zwischen 410 und 4 500.

Hetz fand 1921 bei der Untersuchung von 150 Markenmilchproben, daß der Nachweis der Brucellaagglutinine in der Milch häufiger gelingt, als die Züchtung der Erreger aus der Milch. In 19 Proben fand er spezifische Antikörper, und nur in 7 konnten Brucellen kulturell nachgewiesen werden.

Zeller berichtet 1923, daß die Züchtung der Brucellen aus einem Rahmbodensatzgemisch der Milch einer verdächtigen Kuh am frühesten zum Ziele führt, wenn die Milch steril entnommen ist.

Zwecks Anreicherung der Abortus-Bazillen hat Winkler die zu untersuchenden Milchproben zunächst im Brutschrank gehalten und danach kulturell verarbeitet. Er konnte aber mit dieser Methode keine besseren Ergebnisse feststellen.

Nach Karsten eignet sich zur Kultur der Bang-Bakterien sehr gut ein Rinderserum-Glycerinagar-Nährboden, dem Gentianaviolett und Malachitgrün zugesetzt ist. Die Verwendung dieser Nährböden macht eine besonders peinlich saubere Entnahme der Milchproben überflüssig.

Pröscholdt erzielte die besten kulturellen Ergebnisse durch den direkten Ausstrich der nichtzentrifugierten Milch auf geeignete Nährböden.

b) Tierversuch.

Trotz seiner hohen Kosten und trotz der langen Dauer hat der Tierversuch doch seine Bedeutung für den direkten Nachweis der Abortus-Bang-Bakterien behalten, wird er doch von keiner Methode an Sicherheit übertroffen.

Schröder und Cotton stellten im Jahre 1911 bei einem Teil der Meerschweinchen, denen tuberkulose-verdächtige Milch injiziert worden war, tuberkulose-ähnliche Veränderungen in den Organen fest. Besonders aus der Milz konnten sie auf Glycerinagar ein ihrer Ansicht nach bisher unbekanntes Bakterium züchten, das jedoch schon bald von ihnen in Gemeinschaft mit Mohler als der Erreger des seuchenhaften Verwerfens der Rinder identifiziert wurde. Nach 3 Monaten zeigten die Meerschweinchen vergrößerte, blutreiche Milz, Lymphknotenschwellung, und an der Leber fand man kleine Einziehungen und gelbe Herdchen. Die Nieren waren meist ganz normal, mitunter aber schwer mitbeteiligt und dann weißlich und dabei vergrößert. Bei männlichen Tieren waren die Hoden oft atrophisch, oder auch etwas höckrig vergrößert.

Krage stellte 1913 bei 36 Meerschweinchen, denen Abortuskulturaufschwemmung injiziert war und 8 Monte nach der Infektion getötet waren, keine Organveränderungen und Lymphknotenschwellung fest. Jedoch fand er im Blut sämtlicher getöteten Meerschweinchen spezifische Agglutinine in reicher Menge.

Auch andere Untersucher fanden, daß pathologisch-anatomische Veränderungen an den Organen erst verhältnismäßig spät bei den infizierten Versuchstieren auftreten. Deshalb verläßt man sich heute auch bei der Diagnose „Abortus-Bang“ weniger auf den Sektionsbefund und den direkten kulturellen Brucellennachweis in den Organen dieser Tiere, als auf den serologischen Nachweis der spezifischen Antikörper im Organismus der infizierten Meerschweinchen.

Winkler untersuchte das Blutserum der Meerschweinchen, die 7—8 Wochen p. i. getötet waren, und fand in positiven Fällen einen Agglutinationstiter von 1 : 200 bis 1 : 10 000.

Schermer und Ehrlich bezeichnen den Meerschweinchenversuch als sichersten Weg zum Nachweis von Brucella abortus aus der Milch. Auch nach ihnen liefert die Blutserumuntersuchung bessere Ergebnisse, als die Züchtung der Brucellen aus den Organen der Versuchstiere.

Pröscholdt verimpfte den Bodensatz der zentrifugierten Milch. Das Auftreten von Antikörpern im Meerschweinchenblut hängt zum größten Teil von dem Gehalt des Ausgangsmaterials an Abortus-Bazillen ab. Agglutination und Komplementbildung sind positiv, bevor pathologisch- anatomische Veränderungen auftreten. Meerschweinchenblutserumagglutination in einer Verdünnung von 1:40 wird als positiv angesehen.

Ebenso besteht nach Scharr der Verdacht der Abortus-Bang-Infektion, wenn das Meerschweinchenserum einen Titer von 1:40 aufweist.

Karsten empfiehlt die Verimpfung eines Gemisches von natürlichem Aufrahm und Zentrifugatbodensatz. Die mit Milch in toto geimpften Meerschweinchen zeigen erst nach 7—8 Wochen positive Agglutinationstiter, die mit dem Rahmbodensatzgemisch geimpften Tiere bereits nach 4 Wochen.

Nach Bulanow ergibt die Blutserumagglutination bereits 15—22 Tage p. i. eine positive Reaktion.

Fleischhauer gibt eine Methode an, um Tiere, die vorzeitig eingegangen sind, noch serologisch untersuchen zu können. Dazu werden die Herzkammern geöffnet und von dem noch darin befindlichen Restblut befreit. Dieses Restblut wird dann mit wenig Kochsalzlösung verrührt und nach ½ Stunde zentrifugiert. Dann werden Verdünnungen von 1 : 5, 1 : 10 bis 1 : 80 angesetzt. Die bei dieser Restblutuntersuchung gefundenen Titer entsprachen etwa dem zehnfachen Titer der Originalseren.

Um den Meerschweinchenversuch abzukürzen, exstirpierte Schönberg die Kniefaltenlymphknoten der infizierten Tiere 3 Wochen p. i. und konnte in positiven Fällen daraus die Brucellen züchten.

Plate hat diese Angaben nachgeprüft und auch bestätigt gefunden. Er konnte am 18. Tage p. i. bei 52 Meerschweinchen die Brucellen aus den Kniefaltenlymphknoten züchten. Zur gleichen Zeit reagierten erst 17 von diesen serologisch positiv.

c) Serologische Untersuchungsmethoden.

Infolge der Unzulänglichkeit des Kulturverfahrens und der verhältnismäßig hohen Kosten des Tierversuches, suchte man schon früh die Diagnose „Abortus-Bang“ auf indirektem Wege zu stellen.

Grinsted hat wohl als erster den Versuch unternommen, die Agglutinationsmethode zum Nachweis des seuchenhaften Verkalbens anzuwenden (1907—1908). Er untersuchte Seren von Kühen, die noch nicht oder normal gekalbt hatten, und stellte fest, daß es Abortuskulturen in Dosen von 0,1 cm^3 noch nicht agglutinierte. Dagegen agglutinierte das Serum von Kühen, die verkalbt hatten, die Abortuskulturen in weit geringeren Dosen.

Fadyean und Stockman wiesen als erste Agglutinine in der Milch nach.

Holth und Wall benutzten neben der Agglutination auch die Komplementbindungsreaktion zum Nachweis der Antikörper. Sie konnten hiermit aber nur bei einem Teil der untersuchten, von Abortuskühen stammenden Milchproben spezifische Antikörper nachweisen und lehnten deshalb die serologische Methode als für die Milchuntersuchung unbrauchbar ab.

Reinhardt und Gauß versuchten dann, zunächst einmal klares Serum zu bekommen und setzten Labpulver der Milch zu. Sie fanden dann, daß regelmäßig Agglutinine in die Milch übergehen, wenn diese von abortusinfizierten Kühen stammt. Die Agglutinationstiter schwankten zwischen 1 : 10 und 1 : 1 000.

Fitsch und Lubbehusen kamen zu der Feststellung, daß 29,5 % der Kühe mit einem Blutserumtiter von 1 : 100 mit der Milch Abortus-Bang-Bazillen ausscheiden. Daneben fanden sie vereinzelt Tiere, die trotz negativen serologischen Befundes Bang-Bakterien mit der Milch ausschieden, andererseits fehlten diese oft bei hohen Agglutinationswerten.

Carpenter und Parshall sehen einen Milchserumagglutinationswert von 1 : 60 als positiv an. Darunter werden keine Brucellen mehr ausgeschieden.

Zeller sieht die Milchserumprüfung nicht als gleichwertigen Ersatz für die Blutserumagglutination an, da der jeweilige Titer abortusinfizierter Kühe großen Schwankungen unterworfen ist. Die Untersuchung von Mischmilchproben kann bisweilen wertvolle Hinweise auf das Vorhandensein von infektiösem Abort in einem Bestande geben.

Nach Gilman hat brucellenhaltige Milch einen Mindesttiter von 1 : 80; nach Klimmer von 1 : 100.

Karsten macht darauf aufmerksam, daß es nicht immer gelingt, ein einwandfreies Milchserum zu bekommen. Kolostralmilch kann oft 3—4 Tage lang positiven Ausfall der Agglutination geben. Ein Milchserumtiter von 1 : 5, 1 : 10, 1 : 20, ist nur dann als positiv anzusehen, wenn die Agglutinationsflüssigkeit durchaus klar ist, und das Blutserum einwandfrei positiv ist. Bei Milchproben, die in der Verdünnung 1 : 10 positiv reagieren, stellte Karsten zu 25,4 % Brucellen fest. Demnach liegt bei einem Milchserumtiter von 1 : 10 der Verdacht der Brucellenausscheidung vor.

Pröscholdt berichtet 1932 über die serologische Untersuchung von Gesamtgemelkproben, bei denen zugleich der Tier-

versuch vorgenommen wurde. Beim Milchserum wurde eine Agglutination von 1 : 10, beim Meerschweinchenserum eine solche von 1 : 20 als positiv angesehen. Der Meerschweinchenversuch zeitigte im allgemeinen ein besseres Ergebnis als Milchserumagglutination, jedoch erhöht die kombinierte Methode die Prozentzahl der positiven Fälle. Der positive Ausfall der serologischen Untersuchung von Gesamt- oder Mischmilchproben zeigt an, daß in dem Bestande eine Abortus-Infektion besteht. Der negative Ausfall beweist nicht das Freisein des Bestandes von einer Infektion. In diesem Fall ist der Tierversuch heranzuziehen. Bei der Untersuchung von Einzelmilchproben sieht auch er die Agglutination in einer Verdünnung von 1 : 10 als positiv an. Er fand bei diesem Titer 26,6 % Ausscheider.

Nach Scharr besteht bei Mischmilchproben der Verdacht auf Abortus-Bang-Bazillen, wenn das Milchserum einen Titer von 1 : 10 aufweist. Bei Viertelgemelksproben besteht der Verdacht, daß in demselben sich Abortus-Bang-Bazillen befinden, wenn diese Proben einen Agglutinationstiter von 1 : 10 und darüber zeigen.

Um bei der Untersuchung der Milchproben möglichst schnell zu einer Diagnose zu gelangen, sind von verschiedenen Seiten Schnellagglutinationsmethoden zur Anwendung gebracht worden. So hat schon Schurnakowa die Schnellmethode nach Noble auch auf die Abortus-Bang-Untersuchung ausgedehnt.

Schönberg gibt eine Spiegelobjektträgerprobeagglutination an, die es gestattet, nach 1—2 Minuten das Resultat abzulesen.

In jüngster Zeit haben Berge und Ekrem eine Frischmilchschnellagglutinationsmethode beschrieben, die wegen ihrer Einfachheit und Genauigkeit weitgehendste Beachtung gefunden hat. Nach Berge und Ekrem ist als Grenzwert für den positiven Ausfall der Frischmilchschnellagglutination ein Milchserumtiter von 1 : 20 anzusehen.

Diernhofer hat etwas später eine ähnliche Methode angegeben, die ebenfalls bei einem Milchserumtiter von 1 : 20 positiv ausfällt. Er sieht bei einem Titer von 1 : 20 das Euter als mit Brucellen besiedelt an, und glaubt daher, mit dieser Methode alle Ausscheider erfassen zu können.

II. Kultur der Brucellen.

Bang und Stribolt, den Entdeckern des Erregers des seuchenhaften Verwerfens der Rinder, gelang auch die erste Reinzüchtung des Abortus-Bezillus in Serumgelatineagar-Schüttelkulturen. Sie sahen die Kolonien in einer bestimmten Zone auftreten, und zwar etwa 0,5 cm unter der Oberfläche in einer Breite von 1—1,5 cm und schlossen daraus, daß das Abortus-Bakterium in seinem kulturellen Verhalten eine Sonderstellung einnehme. Später fand man, daß es zwei Optima für das Wachstum der Brucella-Kolonien gibt, wovon das eine einer Sauerstoffspannung

entspricht, die unter der der gewöhnlichen Luft liegt, und das andere einer Sauerstoffspannung, die nahe an 100 % liegt.

Preiß fand die Angaben von Bang und Stribolt bestätigt. Bei Stichkulturen in Traubenzuckeragar blieb der oberste, etwa 1 cm lange Teil des Stiches steril. Um den Kulturröhrchen Sauerstoff zu entziehen, wandte Preiß die Pyrogallolmethode an.

Zwick und Zeller benutzten an Stelle des Rinderserums Amnionflüssigkeit. Dieses hat den Vorteil, daß die Flüssigkeit beim Sterilisieren nicht gerinnt und außerdem den Nährboden aufhellt.

Tüxen stellte vergleichende Untersuchungen mit verschiedenen Nährböden an. Er sah den Abortus-Bazillus in Uterusextraktbouillon mit Glyzerinzusatz am besten wachsen.

Stafseth hat einen Leberagar zur Züchtung der Brucellen angegeben. Zeller will mit demselben gute Erfolge gehabt haben.

Nowak benutzte für die Isolierung des Abortus-Bazillus die Subtilismethode. Agarkulturen des Bazillus subtilis werden zu diesem Zwecke mit den mit Abortus beimpften Kulturröhrchen in einem Gefäße verschlossen. Die Subtiliskulturen schaffen dann durch Verbrauch des Sauerstoffes die richtige Atmosphäre für die Abortus-Kolonien.

Ascoli hat diese Methode dahin abgeändert, daß er anstatt des Bazillus subtilis den Milzbrand-Bazillus nahm.

Huddleson glaubt, daß das Wachstum des Abortus-Bazillus weniger von dem Vorhandensein einer geeigneten O-Spannung, als vielmehr von einer vergrößerten CO_2-Spannung abhängig sei.

Um ein Überwuchern der langsam wachsenden Abortus-Kolonien durch andere Keime zu verhüten, setzte Churchman den Nährböden Gentianaviolett in einer Verdünnung von 1:75 000 bis zu 1 : 100 000 zu. Churchman fand dabei, daß die in ihrem Wachstum gehemmten Bakterien, die er als violett-positiv bezeichnete, auch grampositiv waren, während die nicht gehemmten, die violett-negativen, auch gramnegativ waren.

Stockmayer hat versucht, den beschriebenen Nährboden noch dadurch zu verbessern, daß er ihm noch Malachitgrün in einer Verdünnung von 1 : 250 000 bis 1 : 500 000 zusetzte. Er fand bei Kontrollversuchen, daß Malachitgrün die Zahl der Platten, welche wegen Besiedelung mit unspezifischen Keimen unbrauchbar waren, im Durchschnitt von 55 % auf 8 % verminderte.

Ehrlich benutzte mit gutem Erfolge Agarnährböden mit Zusatz von 1 % Glycerin. Er führte auch die Leuchtgasmethode zur Züchtung der Bang-Bakterien ein, indem er aus den mit verdächtigem Material beimpften Schrägagarglycerinröhrchen die Luft durch Leuchtgas verdrängte und die Röhrchen sofort mit Paraffin verschloß.

Diese Methode wurde von Rudolf nachgeprüft. Nach seinen Angaben eignet sich diese Methode sehr gut zur Züchtung

von Abortus-Bang aus Organmaterial und ist der gewöhnlichen Paraffinverschlußmethode weit überlegen.

Ebenso fand Frisch die Leuchtgasmethode sehr gut zur Züchtung von Abortus-Bang.

Rose hat in jüngster Zeit ein noch einfacheres Verfahren angegeben, um die Luft aus den Kulturen herauszutreiben. Er erhitzt die dem Schrägagar gegenüberliegende Seite des Kulturröhrchens, solange der mit Paraffin getränkte Wattebausch noch warm ist. Das Entweichen der Luft macht sich in dem noch flüssigen Paraffin durch Aufsteigen von Luftbläschen bemerkbar. Mit Hilfe dieser Methode will er die Abortus-Kolonien 1—2 Tage früher zum Vorschein bringen.

C. Eigene Untersuchungen.

Meine Untersuchungen hatten zum Ziele, den direkten Beweis der von Plate im Laufe der Marken- und Vorzugsmilchuntersuchungen im Tiergesundheitsamt der Landesbauernschaft Rheinland indirekt gefundenen Beobachtung zu führen, daß es nicht in jedem Falle gelingt, in Gruppenmilchproben von 10 Kühen, unter denen sich eine Ausscheiderin befindet, serologisch und im Tierversuch zu einem positiven Ergebnis zu kommen. Außerdem hatte ich festzustellen, mit der Milch von wieviel gesunden Kühen man im Laboratorium die Milch einer abortusinfizierten Kuh mischen kann, um einmal serologisch noch zu einem positiven Ergebnis zu kommen, und zweitens, wieweit die durch diese Mischung der Milch bewirkte Verminderung der in der entsprechenden Raumeinheit enthaltenen Bakterienanzahl noch hinreicht, um beim Meerschweinchen eine positive Infektion hervorzurufen.

Das Untersuchungsmaterial wurde mir im Tiergesundheitsamt bei der Landesbauernschaft Rheinland zur Verfügung gestellt. Der Gang der Untersuchung war kurz folgender: Die zum Zwecke der Kontrolle der Vorzugs- und Markenmilchbestände von den Tierärzten eingesandten Milchproben wurden im Institut außer auf Tuberkelbakterien, Streptokokken und andere Krankheitskeime auch auf Abortus-Bang untersucht. Die mit Hilfe der Frischmilchschnellagglutination gefundenen abortusinfizierten Milchproben wurden mir dann für meine Versuche zur Verfügung gestellt. Die zugehörigen Blutproben wurden z. T. ebenfalls von den Tierärzten entnommen, z. T. beschaffte ich sie mir selbst. Die Entnahme der Blutproben in sterilen Blutröhrchen erfolgte durch Punktion der Vena jugularis. Da die Milchproben erst 1—2 Tage nach der Entnahme zur Untersuchung kamen, wurde ihnen Borsäure (1 %) zugesetzt.

I. Untersuchung des Blutserums.

a) Agglutination.

Die Untersuchung des Blutserums der abortus-verdächtigen Milchkühe wurde mit Hilfe der Agglutination und der Komplementbindungsmethode durchgeführt. Die zusammen mit den Milchproben hereinkommenden Blutproben wurden zu diesem Zwecke zunächst 6—7 Minuten bei 3500 Umdrehungen pro Minute zentrifugiert. Bei längerem Zentrifugieren sieht man oft Hämolyse eintreten. Als Antigen wurden Kulturen mehrerer bekannter

Bang-Bakterienstämme des Tiergesundheitsamtes verwandt, die sich durch vorherige Prüfung als gut agglutinabel erwiesen hatten. Nach 3tägiger Bebrütung im Thermostaten bei 37° C wurden die Schrägagarkulturen mit physiologischer Kochsalzlösung abgeschwemmt und durch sterile Watte filtriert. 5 ccm der Kulturabschwemmung entsprachen einer Schrägagarkultur. Um die Haltbarkeit des Antigens zu erhöhen, wurde diesem 1% Formalin zugesetzt. Die Agglutination des Blutserums wurde in den Verdünnungen 1 : 50, 1 : 100, 1 : 200, 1 : 400, 1 : 800, 1 : 1600 und 1 : 3200 in Agglutinationsröhrchen angesetzt. Ich ging dabei von der Grundverdünnung 1 : 50 aus, die ich durch Mischung von 0,1 ccm Blutserum mit 4,9 ccm physiologischer Kochsalzlösung erhielt. Zu der Verdünnung 1 : 100 kam ich durch Mischen von 1 ccm der Grundverdünnung 1 : 50 mit 1 ccm Kochsalzlösung. Durch weiteres Mischen von 1 ccm der jedesmaligen letzten Verdünnung mit 1 ccm NaCl-Lösung erhielt ich dann die nächst höhere doppelte Verdünnung. Die Menge in jedem Röhrchen betrug gleichmäßig 1 ccm.

Stammlösung 1 : 50

1 ccm + 1 ccm NaCl = Verdünnung 1 : 100

1 ccm + 1 ccm NaCl = Verdünnung 1 : 200.

Auf diese Weise fortgesetzt erhält man weiterhin die Verdünnungen 1 : 400, 1 : 800, 1 : 1600, 1 : 3200. In jedes Röhrchen wurde zu der Serumverdünnung 0,1 ccm Antigen hinzugegeben. Sämtliche Seren wurden bis zur Bestimmung des Endtiters mit Antigen angesetzt und nach etwa 18—20 Stunden Aufenthalt im Brutschrank erfolgte die Ablesung der Agglutination. Es wurden nur solche Agglutinationen als positiv angesehen, bei denen sich auf dem Boden des Röhrchens eine deutliche flockige Ausfällung gebildet hatte, und das darüberstehende Serum klar geworden war. Ganz schwache Ausfällungen wurden als negativ bewertet und die nächst tiefere Verdünnung in der Agglutinationsreihe als positiver Endtiter bestimmt.

b) Komplementbindung.

Für die Anstellung der Komplementbindungsreaktion waren erforderlich:

1. ein Antigen, hergestellt aus Kulturen des Abortus-Bang-Bacteriums,
2. frisches, komplementhaltiges Blutserum von normalen Meerschweinchen (1 : 10 verdünnt),
3. ein hochwertiges, inaktiviertes, hämolytisches, auf Hammelblutkörperchen eingestelltes Kaninchenserum (Ambozeptor),
4. 3mal mit steriler 0,85%iger NACl-Lösung gewaschene Hammelblutkörperchen (2%ig),
5. Die zu prüfenden Seren, inaktiviert durch Erhitzung auf 56° C für die Dauer von einer halben Stunde.

Vor der Anstellung des eigentlichen Bindungsversuches wurden 3 Voruntersuchungen ausgeführt:

1. Einstellung des Ambozeptors,
2. Einstellung des Komplementes,
3. Einstellung des Antigenes.

Bei der Ambozeptortitrierung wurde festgestellt, daß der Ambozeptor in einer Verdünnung von 1 : 8000 noch Lösung bedingte. Für die Versuche wurde vom Ambozeptor das 4fache der eben noch vollkommen lösenden Menge verwandt, also 1 ccm der Verdünnung 1 : 2000.

Die noch vollkommen lösende Komplementmenge betrug 0,2 ccm. Für die Versuche wurde die nächst höhere Menge = 0,3 ccm verwandt.

Das Antigen, welches mir in liebenswürdiger Weise von Herrn Direktor Dr. K a r s t e n , Hannover, zur Verfügung gestellt wurde, wurde 1 : 10 verdünnt und in einer Menge von 0,25 ccm gebraucht.

Der Hauptversuch wurde in folgender Anordnung durchgeführt: 0,1 ccm des zu prüfenden, inaktivierten Serums wurde mit 0,25 ccm Antigen (10 %ig), 0,3 ccm Meerschweinchenkomplement und 3,35 ccm physiologischer NaCl-Lösung gemischt und für die Dauer von 20 Minuten in ein Wasserbad von 40° C gebracht. Hierauf wurde 1 ccm des hämolytischen Systems, bestehend aus 0,5 ccm Ambozeptor (1 : 2000) und 0,5 ccm Hammelblutkörperchenaufschwemmung (2%ig) hinzugesetzt und das Ganze abermals für 20 Minuten in das Wasserbad gestellt. Bei positiver Reaktion blieb die Trübung, welche durch Zusatz des hämolytischen Systems eintrat, unverändert bestehen. Negative Reaktion wurde durch vollkommene Hämolyse angezeigt.

Als Kontrollversuche wurde mit je einem bekannten positiven und negativen Serum der Hauptversuch in gleicher Weise wie mit den zu prüfenden Seren ausgeführt. Zur Kontrolle, ob das zu prüfende Serum Eigenhemmung ausübte, wurde der Hauptversuch ohne Antigenzusatz angesetzt, wobei am Schluß Hämolyse auftreten mußte. Ferner wurde zur Prüfung, ob das Serum nicht selbst hämolytische Wirkung hatte, der Hauptversuch ohne Antigen- und Komplementzusatz durchgeführt. Bei einwandfreien Seren durfte hierbei Hämolyse nicht auftreten.

II. Untersuchung des Milchserums.

Da es meine Aufgabe war, festzustellen, inwieweit man in Gruppenmilchproben noch Brucellaagglutinine nachweisen kann. suchte ich zunächst einmal, Gruppenmilchproben von verschiedener Verdünnung nachzubilden. Dazu nahm ich mir eine Einzelprobe, die bei der Frischmilchschnellagglutination positiv reagierte und somit als brucellenhaltig verdächtig war. Diese Milch mischte ich sodann mit der Milch von Kühen, die sich bei der Untersuchung auf Abortus-Bang als vollkommen unverdächtig erwiesen hatte, in der Weise, daß ich zunächst eine bestimmte

Menge der kranken Milch mit der gleich großen Menge einer gesunden Milch mischte. So erhielt ich eine Sammelmilch von 2 Kühen. Eine Gruppenprobe von 3 Kühen erhielt ich durch Mischen von einem Teil positiv reagierender Milch mit zwei Teilen negativ reagierender Milch. Auf diese Weise bildete ich mir Gruppenmilchproben von 2 Kühen, 3, 5 und 10 Kühen.

Abortus-Bang-verdächtige Milch		gesunde Milch		Mischmilch = Gruppenprobe von
1 Teil	+	1 Teil	=	2 Kühen
1 Teil	+	2 Teile	=	3 Kühen
1 Teil	+	4 Teile	=	5 Kühen
1 Teil	+	9 Teile	=	10 Kühen

Die Prüfung dieser einzelnen Milchproben auf ihren Gehalt an Brucellaagglutininen erfolgte mit Hilfe zweier Methoden, der Frischmilchschnellagglutination und der Serumlangsamagglutination.

Die Frischmilchschnellaglutination wurde in der von Berge und Ekrem beschriebenen Weise durchgeführt. Dazu wurden etwa 2 Tropfen der nicht zentrifugierten Milch mit einem Glasstäbchen auf einen sauberen Objektträger gebracht und mit 1—2 Tropfen konzentrierten Antigen in etwa Markstückgröße gut verrührt. Das Antigen erhielt ich durch Abschwemmen von etwa 10 Röhrchen Schrägagarkultur mit 10 ccm physiologischer Kochsalzlösung, so daß auf jedes Röhrchen etwa 1 ccm Kochsalzlösung kam. Um eine gute Durchmischung des Antigens mit der Milch zu erhalten, wurde der Objektträger kurze Zeit in schwenkender Bewegung hin und her bewegt. Bei stark positiven Milchproben konnte man dann schon während des Durchmischens eine Agglutination feststellen, während bei weniger stark positiven Milchen diese Ausflockung erst nach einiger Zeit auftrat. Bei positiven Milchen beobachtet man dann besonders am Rande des Milchfleckes eine deutliche Ausflockung, die besonders bei dunkler Unterlage klar in Erscheinung tritt. Mit der Frischmilchschnellagglutination wurde zugleich und in jedem Falle eine Kochsalzkontrolle vorgenommen, um nicht etwa durch unspezifische Ausflockungen einen Irrtum zu unterliegen.

Sodann wurde mit allen Milchproben die Serumlangsamagglutination angesetzt. Zu diesem Zwecke wurden die einzelnen Milchproben etwa 10 Minuten lang zentrifugiert und dann die Magermilch in sterile Röhrchen umgegossen. Das klare Serum wurde durch Labfällung gewonnen. Zu 5 ccm Magermilch wurde 0,1 ccm Lablösung (Schering) zugesetzt. Nach etwa 2—5stündiger Aufbewahrung im Brutschrank trat dann eine Ausfällung des Kaseins ein. Auf diese Weise wurde in den meisten Fällen ein absolut klares Serum gewonnen, das ohne weiteres Filtrieren und Zentrifugieren zur serologischen Prüfung verwandt werden konnte. Mitunter wies die Molke jedoch mehr oder weniger starke Trübungen auf. Diese Trübung trat besonders dann auf, wenn es nicht gelang, nach dem Zentrifugieren die Magermilch voll-

kommen von dem Milchfett zu trennen. In diesen Fällen war die Trübung auch durch wiederholtes Filtrieren nicht ganz zu entfernen. Die Agglutination wurde in den Verdünnungen 1 : 5, 1 : 10, 1 : 20, 1 : 40, 1 : 80, 1 : 160 bis zum Endtiter nach der gleichen Methode wie die Bestimmung des Blutwertes durchgeführt.

Nach Berge und Ekrem fällt bei einem Milchserumtiter von 1 : 20 und darüber die Frischmilchschnellagglutination regelmäßig positiv aus. Dieses konnte in den weitaus meisten Fällen durch meine Untersuchungen bestätigt werden. Jedoch wurde bei einzelnen Gruppenproben von 10 Kühen festgestellt, daß die Schnellagglutination noch positiv war, wenn die Langsamagglutination einen Wert von 1 : 10 ergab. Als positive Milch wurde ein Titer von 1 : 10 und darüber angesehen, darunter liegende Werte galten als negativ.

III. Kulturelle Untersuchung der Milch.

Sowohl jede Einzelmilchprobe als auch jede Gruppenmilchprobe wurde einer kulturellen Untersuchung auf Brucella abortus unterzogen. Es wurden Ausstriche gemacht vom Rahm und Bodensatz der zentrifugierten Milch. Als Nährboden wurde die Rinderserumglycerinagarplatte (12 % Rinderserum, 3 % Glycerin) mit Zusatz von 0,00075 % Gentianaviolett und Malachitgrün benutzt. Die Bebrütung selbst erfolgte in einer Leuchtgasatmosphäre. Zu diesem Zwecke wurden die beimpften Platten, denen etwas Leuchtgas zugeleitet worden war, in einen Glasbehälter gebracht, dessen Deckel luftdicht abschloß. Auf dem Deckel und an der Seite dieses Gefäßes befand sich ein abschließbares Zuleitungsrohr. Von oben wurde nur solange Leuchtgas zugeführt, bis aus dem seitlichen Rohr ein deutlicher Gasgeruch wahrnehmbar wurde. Die Bebrütung erfolgte bei einer Temperatur von 37 ° C. Die Entwicklung der Bakterien zu erkennbaren Kolonien nahm mindestens 3 mal 24 Stunden in Anspruch. Nach 2 Tagen sah man oft feinste, durchsichtige Kolonien, die jedoch makroskopisch noch nicht als Brucellakolonien angesprochen werden konnten. Nach 3—4 Tagen erreichten diese Kolonien einen Durchmesser von etwa Stecknadelkopfgröße und waren dann vielfach schon makroskopisch als Brucella abortus-Kolonien zu erkennen. Diese Kolonien erschienen dann wasserhell mit einem leicht bläulichen Schimmer und waren von runder, etwa kugelkappenförmiger Gestalt. Der Rand war glatt, die Oberfläche war glatt und glänzend. Nach längerer Bebrütung erreichten diese Kolonien einen Durchmesser von etwa 3 mm. Die endgültige Identifizierung der Abortus-Kolonien erfolgte mit Hilfe eines bekannten spezifischen Serums vom Titer 1 : 5 000. Die Agglutination wurde mit der Objektträgerschnell- und der Röhrchenlangsammethode durchgeführt. Bei der Schnellagglutination wurden 2—3 Tropfen des 1:50 verdünnten Serums auf einen gut gereinigten Objektträger gebracht und eine Öse der verdächtigen Kolonie darin verrieben. In positiven Fällen trat dann meist sehr schnell eine typische Ausflockung ein.

Zur Langsamagglutination wurde die verdächtige Kolonie auf 2 Pferdefleischschrägagarröhrchen übergeimpft. Diese wurde nach 2—3tägiger Bebrütung in einer Leuchtgasatmosphäre mit physiologischer Kochsalzlösung abgeschwemmt. Mit dieser Kulturabschwemmung und dem bekannten Serum wurde in den Serumverdünnungen 1 : 200, 1 : 2 000, 1 : 4 000, 1 : 5 000 die Langsamagglutination angesetzt und nach 18—20stündiger Aufbewahrung im Brutschrank abgelesen. Die Diagnose „Brucella abortus" galt als feststehend, wenn mindestens bei einer Serumverdünnung 1 : 4 000 vollkommene Agglutination eingetreten war. Zeigten sich bis zum 4. Tage noch keine verdächtigen Kolonien, so wurden die Platten bis zum 12. Tage weiter beobachtet. Nur solche Platten, bei denen eine vorzeitige Überwucherung der Nährbodenoberfläche durch unspezifische Keime eintrat, wurden vorher ausgeschaltet.

IV. Tierversuch.

1. Infektion der Meerschweinchen.

Um festzustellen, inwieweit die durch die Verdünnung der abortushaltigen Milch bewirkte Verminderung der in der entsprechenden Raumeinheit enthaltenen Bakterienanzahl sich bei den Untersuchungen auswirkt, wurde neben der serologischen Untersuchung und der kulturellen Züchtung auch noch der Tierversuch herangezogen, und zwar wurde je 2 Meerschweinchen das Rahm-Bodensatzgemisch von etwa 50 ccm der unverdünnten Milch und der Gruppenmilch, welche durch Vermengung von einem Teil verdächtiger Milch mit 9 Teilen unverdächtiger Mischmilch hergestellt war, injiziert. Eine besondere serologische Voruntersuchung der in den Versuch gelangenden Meerschweinchen fand nicht statt, da nach Eickmann und Söntgen der Blutserumtiter normaler Meerschweinchen immer unter 1 : 5 liegt. Das Rahm-Bodensatzgemisch wurde erhalten durch etwa 15 Minuten langes Ausschleudern bei 3 500 Umdrehungen pro Minute von etwa 50 ccm Milch. 1,5 ccm dieses Rahm-Bodensatzgemisches dienten zur Infektion der Meerschweinchen. Die Injektion des Materials erfolgte intramusculär am rechten Hinterschenkel.

2. Serologische Untersuchung.

Nach Ablauf von 6 Wochen wurden die infizierten Meerschweinchen durch Kopfschlag und anschließende Eröffnung der Karotis getötet. Für die serologische Untersuchung wurde das Blut in sterilen Zentrifugenröhrchen aufgefangen und etwa 7—8 Minuten zentrifugiert. Dann wurden in der oben angegebenen Weise Serumverdünnungen von 1 : 50, 1 : 100, 1 : 200 usw. hergestellt und mit 0,1 ccm Abortus-Antigen versetzt. Als positive Reaktion für eine stattgehabte Brucellainfektion wurde ein Titer von 1 : 50 und darüber angesehen.

Vorzeitig eingegangene Meerschweinchen wurden nach der Methode von Fleischhauer serologisch untersucht. Hierzu

wurden die Hervorkammern und Kammern geöffnet und von dem vorhandenen Restblut befreit. Die vorhandenen Blutkoagula wurden mit 1 ccm physiologischer Kochsalzlösung angesetzt und etwa eine halbe Stunde lang stehen gelassen. Sodann wurde zentrifugiert und die Agglutination in den Verdünnungen 1 : 5, 1 : 10, 1 : 20, 1 : 40 usw. angesetzt.

3. Sektion und Kultur der Brucella abortus aus den Organen.

Bei der Sektion der Meerschweinchen wurden besonders die Organe berücksichtigt, an denen man am häufigsten die für die Brucellose charakteristischen Veränderungen findet. Diese Veränderungen wurden am häufigsten gefunden an Lymphknoten und Milz, seltener an der Leber und anderen Organen. Die Veränderungen selbst bestanden in Schwellung der Milz und der Lymphknoten, in der Bildung von kleinen gelben Herden in der Leber, und in einem Falle war es zur Abszedierung der Hoden gekommen. Leber, Milz und Lymphknoten wurden von jedem Meerschweinchen kulturell untersucht. Es wurden Ausstriche gemacht auf die Rinderserumglycerinagarplatte und auf gewöhnlichen Pferdefleischschrägagar, die dann in der oben beschriebenen Weise bebrütet wurden. Die Organe von solchen Versuchstieren, die vorzeitig eingeagngen waren, wurden in derselben Weise einer kulturellen Untersuchung unterzogen.

D. Untersuchungsbefunde.

I. Untersuchung der Milchproben ohne zugehörige Blutproben.

Bei der einen Hälfte der Einzelmilchproben gelangten die zugehörigen Blutproben nicht zur Untersuchung.

In der Tabelle I werden die Ergebnisse der Frischmilchschnellagglutination mit denen der Serumlangsamagglutination verglichen.

Tabelle 1.

Milchprobe	Frischmilchschnellagglutination Verdünnung +)					Langsamagglutination Verdünnung				
	1	2	3	5	10	1	2	3	5	10
1	+	±	±	—	—	1:160	1:80	1:20	1:10	—
2	++	+	+	±	±	1:80	1:80	1:40	1:20	1:10
3	+	+	±	±	—	1:40	1:20	1:20	1:10	—
4	+	+	±	—	—	1:80	1:40	1:20	1:10	—
5	++	+	+	±	±	1:640	1:160	1:80	1:20	1:20
6	+	±	±	—	—	1:40	1:20	1:10	—	—
7	±	—	—	—	—	1:5	—	—	—	—
8	+	±	±	±	—	1:80	1:40	1:40	1:10	—
9	+	±	±	—	—	1:40	1:20	1:10	1:5	—
10	+	+	±	±	—	1:80	1:40	1:20	1:10	—
11	++	+	+	±	±	1:200	1:80	1:40	1:20	1:20
12	+	+	±	±	—	1:80	1:40	1:40	1:20	1:5
13	+	±	±	±	—	1:80	1:20	1:10	1:5	—
14	+	±	±	±	—	1:80	1:40	1:40	1:10	—
15	++	+	+	+	±	1:320	1:160	1:80	1:40	1:40
16	+	+	±	±	—	1:160	1:80	1:40	1:10	—
22	+	±	±	—	—	1:40	1:20	1:10	—	—
29	++	±	±	±	±	1:160	1:80	1:40	1:20	1:5
39	+	±	±	—	—	1:80	1:40	1:20	1:10	—
42	+	+	±	±	—	1:80	1:40	1:40	1:20	1:10
46	+	+	±	±	±	1:80	1:40	1:20	1:20	1:5
47	±	±	±	—	—	1:40	1:20	1:10	—	—
48	±	—	—	—	—	—	—	—	—	—
49	±	—	—	—	—	—	—	—	—	—
50	++	+	+	±	±	1:160	1:80	1:80	1:40	1:40
51	++	+	+	+	±	1:200	1:80	1:40	1:20	1:20
52	±	±	—	—	—	1:20	1:10	1:5	—	—

Tabelle 1 (Fortsetzung).

Milchprobe	Frischmilchschnellagglutination Verdünnung +)					Langsamagglutination Verdünnung				
	1	2	3	5	10	1	2	3	5	10
53	+	+	±	±	—	1:80	1:40	1:20	1:5	—
54	±	±	±	—	—	1:40	1:20	1:10	—	—
55	+	+	±	±	—	1:80	1:40	1:40	1:20	1:5
56	±	—	—	—	—	—	—	—	—	—
57	±	—	—	—	—	—	—	—	—	—
58	+	±	—	—	—	1:10	1:5	—	—	—
59	++	+	+	±	±	1:160	1:80	1:80	1:40	1:40
62	+	+	±	±	—	1:80	1:40	1:40	1:20	1:5
64	++	+	±	±	—	1:160	1:80	1:40	1:10	—
65	+	+	+	±	±	1:80	1:40	1:20	1:10	—
66	+	±	±	±	—	1:80	1:40	1:20	1:10	—
74	++	+	+	±	±	1:400	1:200	1:80	1:40	1:40
75	±	—	—	—	—	—	—	—	—	—
76	±	—	—	—	—	1:5	—	—	—	—
83	±	—	—	—	—	1:5	—	—	—	—
88	+	+	±	±	±	1:80	1:40	1:40	1:20	1:10
89	±	±	—	—	—	1:40	1:20	1:10	—	—
90	±	±	—	—	—	1:20	1:10	—	—	—
91	+	+	±	±	±	1:80	1:40	1:40	1:20	1:10
92	±	±	—	—	—	1:40	1:20	1:5	—	—
93	++	+	+	±	±	1:80	1:40	1:40	1:20	1:10
96	+	±	±	±	—	1:40	1:20	1:20	1:10	—
98	+	±	±	±	—	1:40	1:20	1:10	—	—
102	+	±	±	±	—	1:80	1:40	1:20	1:5	—
103	+	±	±	—	—	1:80	1:40	1:20	1:10	1:5
86	+	±	±	±	—	1:80	1:40	1:20	1:10	—

Die Zeichen bedeuten:

++ = positiv, deutliche, schnelleinsetzende Ausflockung.
+ = positiv, verzögerte Ausflockung.
± = positiv, langsam eintretende Ausflockung.
— = negativ.

Die Zahlen bedeuten:

1 = Einzelproben.
2 = Gruppenprobe bestehend aus einem Teil abortusinfizierter Milch und einem Teil gesunder Milch.
3 = Gruppenprobe bestehend aus einem Teil abortusinfizierter Milch und 2 Teilen gesunder Milch.
5 = Gruppenprobe bestehend aus einem Teil abortusinfizierter Milch und 4 Teilen gesunder Milch.
10 = Gruppenprobe bestehend aus einem Teil abortusinfizierter Milch und 9 Teilen gesunder Milch.

Diese Milchproben wurden bei den laufenden Untersuchungen im Institut mit Hilfe der Frischmilchschnellagglutination als

Abortus-Bang-verdächtig ermittelt und von mir in den Versuch genommen. Bei meinen serologischen Untersuchungen zeigte sich, daß von den 53 bei der Frischmilchschnellagglutination teils sehr stark, teils schwach reagierenden Proben bei der Serumlangsammethode 5 vollkommen negativ waren, während 3 einen Titer von 1:5 hatten. Der Titer der einzelnen Gruppenproben nahm in den steigenden Verdünnungen gleichmäßig ab. Schwach positiv reagierende Einzelmilchproben zeigten in der 3, 5 bezw. 10fachen Verdünnung keine Agglutination mehr. Die Stärke der Ausflokkung bei der Frischmilchschnellagglutination war abhängig von der Höhe des Milchserumtiters. Und je höher der Titer des Milchserums war, umso höher war die Prozentzahl der infizierten Versuchstiere.

Jede Abortus-Bang-verdächtige Milchprobe wurde an zwei Meerschweinchen verimpft, und zwar einmal als Einzelprobe an je 2 Meerschweinchen und einmal als Gruppenprobe, bestehend aus dem Gemisch von einem Teil abortus-infizierter Milch und 9 Teilen gesunder Milch, ebenfalls an je 2 Meerschweinchen. Die Tabelle II zeigt, daß es trotz hohen Agglutinationstiters nicht immer gelang, Abortus-Bang-Bakterien im Tierversuch nachzuweisen, Von den 45 Einzelmilchproben — die 3 Proben mit dem Titer 1:5 wurden ebenfalls als negativ gewertet — wurden durch Tierversuch insgesamt 22 als Abortus-Bang-Bakterien-haltig ermittelt. Die Gruppenprobe war dagegen nur in 7 Fällen brucellenhaltig und zwar jedesmal in Übereinstimmung mit der entsprechenden Einzelprobe. Der Milchserumtiter dieser Proben lag in den meisten Fällen über 1:80. Die Gruppenprobe konnte in diesen 7 Fällen bei der Serumlangsammethode ebenfalls noch als positiv ermittelt werden und zeigte einen Titer von 1 : 5 bis 1 : 40.

Noch größer waren die Unterschiede in den Ergebnissen der einzelnen Verdünnungen bei der kulturellen Züchtung der Bakterien aus dem Rahm und Bodensatz der Milch. In der Tabelle II sollen die Ergebnisse der Serumlangsamagglutination den Ergebnissen der kulturellen Milchuntersuchung und des Tierversuches einander gegenübergestellt werden.

Es ist bereits erwähnt worden, daß nur solche Proben weiter untersucht wurden, die bei der Frischmilchschnellagglutination positive Reaktion zeigten. Bei den weiteren Untersuchungen stellte sich aber heraus, daß 5 von den 53 Proben, die bei der Schnellmethode positiv waren, bei der Röhrchenmethode, im Kulturverfahren und im Tierversuch ein negatives Ergebnis hatten. Außerdem zeigten 3 Proben, die bei der Schnellmethode positiv waren, bei der Serumlangsamagglutination nur einen Titer von 1:5. Diese wurden ebenfalls negativ bewertet, zumal, da sie auch bei der Züchtung und im Tierversuch negativ blieben. Mit der Höhe der Verdünnungen der einzelnen Milchproben stieg auch die Zahl der negativen Reaktionen. Zeigte z. B. eine Einzelprobe eine deutliche Ausflockung, so war bei der 10fachen Verdünnung nur noch eine negative oder ganz schwach positive Reaktion festzustellen.

Tabelle II.

Ergebnisse der Röhrchenlangsamagglutination, der kulturellen Züchtung und des Tierversuches.

Milch-probe	Langsamagglutination Verdünnung					Kultur aus der Milch Verdünnung					Tierversuch, Verdünnung	
	1	2	3	5	10	1	2	3	5	10	1	10
1	1:160	1:80	1:20	1:10	—	+	+	—	—	—	ig*)	—
2	1:80	1:80	1:40	1:20	1:10	—	—	—	—	—	—	—
3	1:40	1:20	1:20	1:10	—	—	—	—	—	—	—	—
4	1:80	1:40	1:20	1:10	—	—	—	—	—	—	+	—
5	1:640	1:160	1:80	1:20	1:20	—	+	+	—	—	+	+
6	1:40	1:20	1:10	—	—	—	—	—	—	—	—	—
7	1:5	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—
8	1:80	1:40	1:40	1:10	—	—	—	—	—	—	—	—
9	1:40	1:20	1:10	1:5	—	—	—	—	—	—	—	—
10	1:80	1:40	1:20	1:10	—	—	—	—	—	—	—	—
11	1:200	1:80	1:40	1:20	1:20	+	—	—	—	—	+	+
12	1:80	1:40	1:40	1:20	1:5	—	—	—	—	—	+	—
13	1:80	1:20	1:10	1:5	—	—	—	—	—	—	—	—
14	1:80	1:40	1:40	1:10	—	—	—	—	—	—	+	—
15	1:320	1:160	1:80	1:40	1:40	—	+	+	—	—	+	+
16	1:160	1:80	1:40	1:10	—	—	—	—	—	—	—	—
22	1:40	1:20	1:10	—	—	—	—	—	—	—	—	—
29	1:160	1:80	1:40	1:20	1:5	+	—	—	—	—	+	—
39	1:80	1:40	1:20	1:10	—	+	—	+	—	—	+	—
42	1:80	1:40	1:40	1:20	1:10	—	—	—	—	—	+	+
46	1:80	1:40	1:20	1:20	1:5	—	—	—	—	—	+	—
47	1:40	1:20	1:10	—	—	—	—	—	—	—	+	—
48	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—
49	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—
50	1:160	1:80	1:80	1:40	1:40	—	—	—	—	—	+	—
51	1:200	1:80	1:40	1:20	1:20	—	—	—	—	—	+	+
52	1:20	1:10	1:5	—	—	—	—	—	—	—	—	—
53	1:80	1:40	1:20	1:5	—	+	—	—	—	—	+	—
54	1:40	1:20	1:10	—	—	—	—	—	—	—	—	—
55	1:80	1:40	1:40	1:20	1:5	—	—	—	—	—	+	—
56	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—
57	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—
58	1:10	1:5	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—
59	1:160	1:80	1:80	1:40	1:40	—	+	—	—	—	+	+
62	1:80	1:40	1:40	1:20	1:5	—	—	—	—	—	+	—
64	1:160	1:80	1:40	1:10	—	+	—	—	—	—	ig.	—
65	1:80	1:40	1:20	1:10	—	—	—	—	—	—	+	—
66	1:80	1:40	1:20	1:10	—	—	—	—	—	—	—	—

*) ig. = intercurrent gestorben.

Tabelle II (Fortsetzung).

Milchprobe	Langsamagglutination Verdünnung					Kultur aus der Milch Verdünnung					Tierversuch, Verdünnnng	
	1	2	3	5	10	1	2	3	5	10	1	10
74	1:400	1:200	1:80	1:40	1:40	+	—	—	—	—	+	—
75	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—
76	1:5	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—
83	1:5	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—
86	1:80	1:40	1:20	1:10	—	—	—	—	—	—	—	—
88	1:80	1:40	1:40	1:20	1:10	—	—	—	—	—	—	—
89	1:40	1:20	1:10	—	—	—	—	—	—	—	—	—
90	1:20	1:10	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—
91	1:80	1:40	1:40	1:20	1:10	+	—	—	+	—	+	—
92	1:40	1:20	1:5	—	—	—	—	—	—	—	—	—
93	1:80	1:40	1:40	1:20	1:10	+	+	—	—	—	+	+
96	1:40	1:20	1:20	1:10	—	—	—	—	—	—	—	—
98	1:40	1:20	1:10	—	—	+	+	—	—	—	+	—
102	1:80	1:40	1:20	1:5	—	—	—	—	—	—	—	—
103	1:80	1:40	1:20	1:10	1:5	—	—	—	—	—	—	—

Bei der Serumlangsammethode konnte man das gleiche Ergebnis feststellen. Die Stärke der Ausflockung bei der Frischmilchschnellagglutination ließ mit ziemlicher Sicherheit auf einen entsprechend hohen Titer bei der Serumlangsamagglutination schließen. Die Höhe des Milchserumtiters nahm fast immer entsprechend der Höhe der Verdünnung der einzelnen Proben gleichmäßig ab. Hate z. B. die Einzelprobe einen Endtiter von 1 : 80, so war bestimmt anzunehmen, daß die 10fach verdünnte Milch entweder negativ war oder höchstens einen Titer von 1 : 10 bis 1 : 20 aufwies.

Der direkte Nachweis der Bang-Bakterien aus dem Rahm und Bodensatz der zentrifugierten Milch gelang trotz der Wahrscheinlichkeit der bestehenden Euterinfektion nur in insgesamt 13 Versuchsreihen. Es bestand jedoch ein großer Unterschied bei den Ergebnissen der Züchtung aus den Einzelmilchproben, aus den 2—3fachen Verdünnungen und den 5- und 10fach verdünnten Proben. Es gelang die Züchtung der Bang-Bakterien aus den Einzelmilchproben 10 mal, aus den 2fach verdünnten Proben 6 mal, aus den 3fach verdünnten Milchproben 4 mal, aus den 5fach verdünnten 1 mal. Aus den 10fach verdünnten Milchproben gelang die Züchtung in keinem Falle. Ein Unterschied in der Zeit, die die einzelnen Kolonien zu ihrem Wachstum gebrauchten, war nicht festzustellen. Nach 3—4 Tagen erschienen die oben beschriebenen Kolonien auf der Nährbodenoberfläche und konnten dann makroskopisch, mikroskopisch und durch Agglutination diagnostiziert werden. Nur die Kolonien aus den Milchproben 33—3 und 53—1 konnten erst nach 6 bezw. 7 Tagen als Abortus-

Bang-Kolonien erkannt werden. Die Züchtung aus Rahm und Bodensatz der zentrifugierten Milch hatte ungefähr dieselben Ergebnisse. Bei den insgesamt 21 positiven Kulturen erfolgte die Züchtung der Bakterien 10 mal aus Rahm und Bodensatz gleichzeitig, 6 mal gelang die Züchtung nur aus Rahm und 5 mal nur aus Bodensatz. Ausstriche aus Rahm und Bodensatz sind also gleich gut für die Kultur der Brucellen geeignet, es empfiehlt sich aber, beide Verfahren anzuwenden, um eine möglichst hohe Zahl von positiven Kulturen zu erreichen. Unangenehm bemerkbar machte sich bei der Züchtung der Bang-Bakterien die Überwucherung der Platten durch Kokken und Schimmelpilzrasen, die sich trotz Zusatz von Gentianaviolett und Malachitgrün zu den Nährböden nicht immer vermeiden ließ. Auch hier zeigte sich, daß gerade die höheren Verdünnungen in vermehrtem Umfange von unspezifischen Keimen überwuchert wurden. Das ist auch leicht erklärlich, denn durch die Verdünnung der abortusinfizierten Milch kommt es einmal zu einer Verminderung der in der Raumeinheit enthaltenen Bang-Bakterien und damit zu einer bedeutend dünneren Aussaat, andererseits kommt es aber durch die Mischung von 10 verschiedenen Milchproben zu einer Anreicherung von unspezifischen Keimen und Kokken. Infolge des häufigen Auftretens von unspezifischen Keimen war eine Reinkultur aus der Milch selbst nicht möglich. Diese Reinkultur und damit eine genaue Identifizierung der Brucellen war erst nach 2 Schrägagarpassagen möglich.

Bessere Ergebnisse als die Züchtung aus dem Rahm- und Bodensatz der Milch hatte der Tierversuch. Von den insgesamt 45 serologisch positiven Milchproben wurden durch den Tierversuch 22 als brucellenhaltig ermittelt. Bei den Milchproben Nr. 1 und 64 führte der Tierversuch zu keinem Ergebnis, weil die beiden infizierten Meerschweinchen vorzeitig eingingen. Diese wurden nur durch die Kultur als brucellenhaltig festgestellt. Um zu sehen, welchen Einfluß die Verminderung der in der Raumeinheit enthaltenen Bakterienanzahl auf das Angehen der Infektion bei Versuchstieren hat, wurde jede Milchprobe 1 mal als Einzelprobe 2 Meerschweinchen injiziert und 1 mal als 10fach verdünnte Milch 2 Meerschweinchen. Dabei hat sich nun herausgestellt, daß die Menge der injizierten Bakterien von großem Einfluß ist für die positive Infektion. Es ist bekannt, daß das Angehen der Infektion bei den Versuchstieren abhängig ist von der Virulenz und Menge der injizierten Bakterien und der Empfänglichkeit des Versuchstieres. Je größer also die Menge virulenter Bakterien ist, die injiziert wird, eine umso geringere Rolle wird dann die Empfänglichkeit des Meerschweinchens bei der Infektion spielen. Und umgekehrt wird der Grad der Empfänglichkeit der Versuchstiere eine entscheidende Rolle spielen bei der Injektion einer nur geringen Menge von Bakterien. Es hat sich im Verlauf der Untersuchungen dann auch gezeigt, daß nur 28,6 % der Milchproben, die bei der Verimpfung als Einzelprobe ein positives Ergebnis hatten, bei

der Verimpfung als 10fach verdünnte Milch ein positives Resultat zeitigten.

Zusammenfassend ist über die Untersuchung dieser 53 Milchproben und der daraus hergestellten Gruppenproben folgendes zu sagen: Alle 53 Milchproben reagierten als Einzelprobe bei der Frischmilchschnellagglutination positiv, bei der Serumlangsammethode reagierten 5 Proben negativ, 3 Proben zeigten einen Titer von 1 : 5 und 45 einen Titer von 1 : 10 und darüber. Von den 45 positiven Proben wurden 2 4als brucellenhaltig ermittelt. Bei der kulturellen Untersuchung wurden insgesamt in 13 Versuchsreihen Abortus-Bakterien ermittelt. Und zwar 10 mal bei der Einzelprobe, 6 mal bei der 2fach verdünnten, 4 mal bei der 3fach verdünnten, 1 mal bei der 5fach verdünnten Milchprobe. Die 10fach verdünnte Probe war jedesmal negativ.

Der Tierversuch lieferte in 22 Fällen ein positives Ergebnis. Es waren 22 Einzelproben brucellenhaltig, während die dazu gehörigen 10fach verdünnten Proben nur 7 mal als brucellenhaltig ermittelt werden konnten. Die weitere Auswertung dieser Ergebnisse erfolgt weiter unten im Zusammenhang mit der Untersuchung der Milchproben mit zugehörigen Blutproben.

II. Untersuchung der Milchproben mit zugehörigen Blutproben.

Bei der Untersuchung der weiteren 53 Milchproben wurden die zugehörigen Blutproben von den Milchkühen zum Vergleich herangezogen. Die Untersuchung der Milch wurde in gleicher Weise wie bei den übrigen Proben durchgeführt. In der Tabelle III sollen die Blutserumergebnisse den Ergebnissen der Frischmilchschnellagglutinationsmethode und der Milchserumlangsamagglutinationsmethode entgegengestellt werden.

Tabelle III.

Vergleich der Ergebnisse der blutserologischen Untersuchung, der Frischmilchschnell- und Serumlangsamagglutination.

Milch-probe	Blutserum		Frischmilchschnell-methode Verdünnung					Milchserumlangsammethode Verdünnung				
	Aggl.	Kompl.	1	2	3	5	10	1	2	3	5	10
17	1:3200	+	++	+	±	±	±	1:80	1:40	1:20	1:20	1:10
18	1:1600	+	++	+	+	±	±	1:200	1:80	1:40	1:40	1:20
19	1:400	+	+	±—	±	±	—	1:80	1:40	1:20	1:10	—
20	1:1600	+	++	+	+	±	±	1:200	1:80	1:40	1:20	1:10
21	1:800	+	++	++	+	+	±	1:640	1:160	1:80	1:40	1:40
23	1:400	+	±	±	—	—	—	1:20	1:10	—	—	—
24	1:1600	+	+	±	±	±	—	1:160	1:80	1:40	1:20	1:20
25	1:50	+	±	—	—	—	—	1:20	1:10	—	—	—
26	1:1600	+	++	+	+	±	±	1:320	1:160	1:80	1:40	1:20
27	1:3200	+	++	+	+	±	±	1:320	1:160	1:80	1:40	1:40

Tabelle III (Fortsetzung).

Milch-probe	Blutserum		Frischmilchschnell-methode Verdünnung					Milchserumlangsammethode Verdünnung				
	Aggl.	Kompl.	1	2	3	5	10	1	2	3	5	10
28	1:400	+	±	—	—	—	—	1:40	1:20	1:10	—	—
30	1:800	+	+	+	±	±	—	1:160	1:80	1:40	1:20	—
31	1:200	+	+	±	±	±	—	1:40	1:20	1:10	—	—
32	1:800	+	++	+	+	±	±	1:320	1:160	1:80	1:20	1:10
33	1:1600	+	+	+	±	±	—	1:80	1:40	1:20	1:10	—
34	1:400	+	+	+	±	±	—	1:80	1:40	1:20	1:10	—
35	1:800	+	+	±	—	—	—	1:40	1:20	1:10	—	—
36	1:1600	+	++	+	+	±—	±	1:400	1:160	1:80	1:40	1:20
37	1:200	+	±	±	—	—	—	1:40	1:20	1:10	—	—
38	1:400	+	+	±—	±	—	—	1:80	1:40	1:20	1:10	—
40	1:800	+	++	+	+	±	±	1:200	1:160	1:40	1:40	1:20
41	1:400	+	+	+	±	±	—	1:160	1:80	1:40	1:20	1:5
43	1:400	+	±	—	—	—	—	1:40	1:20	1:5	—	—
44	—	—	±	±	—	—	—	1:40	1:20	1:10	—	—
45	1:800	+	±	±	—	—	—	1:40	1:20	1:10	—	—
60	1:400	+	±	—	—	—	—	1:5	—	—	—	—
61	1:3200	+	+	+	±	±	—	1:80	1:40	1:20	1:10	—
68	1:400	+	±	±	—	—	—	1:40	1:20	1:10	—	—
67	1:3200	+	++	+	+	±	±	1:160	1:80	1:40	1:20	1:10
68	1:1600	+	+	±	±	—	—	1:40	1:20	1:10	—	—
69	1:400	+	±	±	—	—	—	1:40	1:20	1:5	—	—
70	1:200	+	±	±	±	—	—	1:80	1:40	1:20	1:10	—
71	1:400	+	+	+	±	±	—	1:160	1:80	1:40	1:20	1:5
72	1:800	+	±	±	—	—	—	1:40	1:20	1:5	—	—
73	1:100	+	±	±	——	—	—	1:20	1:10	—	—	—
77	1:200	+	+	+	±	±	—	1:80	1:40	1:20	1:10	—
78	1:1600	+	++	++	+	+	±	1:800	1:200	1:80	1:40	1:20
79	1:200	+	+	+	±	±	—	1:80	1:40	1:20	1:10	—
80	1:200	+	+	±	±	±	—	1:80	1:40	1:20	1:10	—
81	1:800	+	+	+	±	±	±	1:400	1:200	1:80	1:40	1:20
82	1:400	+	+	+	±	±	—	1:80	1:40	1:20	1:10	—
84	1:800	+	++	+	+	±	±	1:200	1:80	1:80	1:40	1:20
85	1:200	+	±	±	—	—	—	1:40	1:20	1:10	—	—
87	1:1600	+	++	+	+	±	±	1:400	1:160	1:80	1:40	1:20
94	1:200	+	++	+	+	±	±	1:320	1:160	1:80	1:40	1:40
95	1:400	+	±	±	—	—	—	1:40	1:20	1:10	—	—
97	1:1600	+	+	±	—	—	—	1:20	1:10	—	—	—
99	1:800	+	±	±	—	—	—	1:20	1:10	—	—	—
100	1:800	+	+	+	±	±	±	1:160	1:80	1:40	1:20	1:10
101	1:200	+	±	±	—	—	—	1:20	1:10	—	—	—
104	1:400	+	+	+	±	—	—	1:40	1:20	1:10	—	—
105	1:1600	+	±	±	—	—	—	1:20	1:10	—	—	—
106	1:800	+	+	+	±	±	±	1:160	1:80	1:80	1:40	1:20

Die Blutserumagglutination und die Komplementbindungsreaktion ergaben in allen Fällen dasselbe Resultat. Der Blutserumtiter der einzelnen Milchkühe lag mit einer Ausnahme zwischen 1 : 50 und 1 : 3 200. Die dazu gehörigen Milchproben zeigten einen Titer von 1 : 10 bis 1 : 800 außer der Probe Nr. 60, deren Titer 1 : 5 war. In einem Falle, Blutprobe Nr. 44, konnte festgestellt werden, daß das Blutserum in beiden Reaktionen negativ war, während das Milchserum einen Titer von 1: 40 zeigte. In dieser Milch konnten weder im Tierversuch noch kulturell Brucellen nachgewiesen werden. Eine sichere Gesetzmäßigkeit im Übereinstimmen vom Milchserum- und Blutserumtiter derart, daß ein hoher Blutserumtiter auch einen entsprechend hohen Milchserumtiter zur Folge gehabt hätte, konnte nicht festgestellt werden. Jedoch zeigte sich später beim Tierversuch, daß bei steigendem Bluttiter die Prozentzahl der positiven Tierversuche sich erhöhte.

In der Tabelle IV werden die blutserologischen Befunde und die milchserologischen Ergebnisse den Ergebnissen der Züchtung aus der Milch und dem Tierversuch gegenübergestellt.

Tabelle IV.

Vergleich der Ergebnisse der blutserologischen und milchserologischen Untersuchung, der Kultur und des Tierversuches.

Milchprobe	Blutserum		Milchserumlangsammethode Verdünnung					Kulturelle Züchtung Verdünnung					Tierversuch Verdünnung	
	Aggl.	Kompl	1	2	3	5	10	1	2	3	5	10	1	10
17	1:3200		1:80	1:40	1:20	1:20	1:10	+	—	—	—	—	+	+
18	1:1600		1:200	1:80	1:40	1:40	1:20	+	+	—	—	—	+	—
19	1:400		1:80	1:40	1:20	1:10	—	+	—	+	—	—	+	—
20	1:1600		1:200	1:80	1:40	1:20	1:10	+	+	—	—	—	+	—
21	1:800		1:640	1:160	1:80	1:40	1:40	—	—	—	—	—	+	—
23	1:400		1:20	1:10	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—
24	1:1600		1:160	1:80	1:40	1:20	1:20	—	—	—	—	—	+	+
25	1:50		1:20	1:10	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—
26	1:1600		1:320	1:160	1:80	1:40	1:20	—	—	—	—	—	+	—
27	1:3200		1:320	1:160	1:80	1:40	1:40	—	—	—	—	—	+	—
28	1:400		1:40	1:20	1:10	—	—	—	—	—	—	—	—	—
30	1:800		1:160	1:80	1:40	1:20	—	—	+	—	—	—	+	—
31	1:200		1:40	1:20	1:10	—	—	—	—	—	—	—	+	—
32	1:800		1:320	1:160	1:80	1:20	1:10	—	+	—	+	—	+	—
33	1:1600		1:80	1:40	1:20	1:10	—	+	—	+	—	—	+	—
34	1:400		1:80	1:40	1:20	1:10	—	—	—	—	—	—	+	—
35	1:800		1:40	1:20	1:10	—	—	—	—	—	—	—	—	—
36	1:1600		1:400	1:160	1:80	1:40	1:20	+	—	—	—	—	+	—

Tabelle IV (Fortsetzung).

Milchprobe	Blutserum	Milchserumlangsammethode Verdünnung					Kulturelle Züchtung Verdünnung					Tierversuch Verdünnung	
	Aggl. Kompl.	1	2	3	5	10	1	2	3	5	10	1	10
37	1:200	1:40	1:20	1:10	—	—	—	—	—	—	—	—	—
38	1:400	1:80	1:40	1:20	1:10	—	—	—	—	—	—	—	—
40	1:800	1:200	1:160	1:40	1:40	1:20	+	+	—	+	—	ig.	—
41	1:400	1:160	1:80	1:40	1:20	1:5	—	—	—	—	—	—	—
43	1:400	1:40	1:20	1:5	—	—	—	—	—	—	—	+	+
44	—	1:40	1:20	1:10	—	—	—	—	—	—	—	—	—
45	1:800	1:40	1:20	1:10	—	—	—	—	—	—	—	—	—
60	1:400	1:5	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—
61	1:3200	1:80	1:40	1:20	1:10	—	—	—	—	—	—	+	—
63	1:400	1:40	1:20	1:10	—	—	—	—	—	—	—	—	—
67	1:3200	1:160	1:80	1:40	1:20	1:10	—	—	—	—	——	+	—
68	1:1600	1:40	1:20	1:10	—	—	—	—	—	—	——	+	—
69	1:400	1:40	1:20	1:5	—	—	—	—	—	—	—	—	—
70	1:200	1:80	1:40	1:20	1:10	—	—	—	—	—	—	—	—
71	1:400	1:160	1:80	1:40	1:20	1:5	+	—	—	—	—	+	—
72	1:800	1:40	1:20	1:5	—	—	—	—	—	—	—	—	—
73	1:100	1:20	1:10	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—
77	1:200	1:80	1:40	1:20	1:10	—	—	—	—	—	—	+	—
78	1:1600	1:800	1:200	1:80	1:40	1:20	+	—	+	—	—	+	+
79	1:200	1:80	1:40	1:20	1:10	—	—	—	—	—	—	+	—
80	1:200	1:80	1:40	1:20	1:10	—	—	—	—	—	—	+	—
81	1:800	1:400	1:200	1:80	1:40	1:20	+	+	—	+	—	+	+
82	1:400	1:80	1:40	1:20	1:10	—	—	—	—	—	—	+	—
84	1:800	1:200	1:80	1:80	1:40	1:20	—	—	—	—	—	+	+
85	1:200	1:40	1:20	1:10	—	—	—	—	—	—	—	—	—
87	1:1600	1:400	1:160	1:80	1:40	1:20	—	—	—	—	—	+	+
94	1:200	1:320	1:160	1:80	1:40	1:40	+	—	—	—	—	+	+
95	1:400	1:40	1:20	1:10	—	—	—	—	—	—	—	—	—
97	1:1600	1:20	1:10	—	—	—	—	—	—	—	—	+	—
99	1:800	1:20	1:10	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—
100	1:800	1:160	1:80	1:40	1:20	1:10	—	—	—	—	—	+	—
101	1:200	1:20	1:10	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—
104	1:400	1:40	1:20	1:10	—	—	—	—	—	—	—	—	—
105	1:1600	1:20	1:10	—	—	—	—	—	—	——	—	—	—
106	1:800	1:160	1:80	1:80	1:40	1:20	+	—	—	—	—	+	+

Die Frischmilchschnellmethode zeigte bei den Einzelproben 14mal eine sehr stark Ausflockung, 21mal eine mittelgradige Ausflockung und 18mal eine schwach positive Reaktion. In den einzelnen Verdünnungen wurde die Ausflockung mit der Höhe der Verdünnung sowohl qualitativ als auch quantitativ immer un-

deutlicher, indem 1mal die Reaktion mit dem Grade der Verdünnung abnahm, und zweitens zugleich die Gesamtzahl der serologisch als positiv zu erfassenden Gruppenmilchproben geringer wurde. Die Ergebnisse der Serumlangsamagglutination stimmten mit den Befunden bei der Schnellmethode im allgemeinen überein. Jedoch ging die Abnahme der Titerhöhe in den einzelnen Verdünnungen nicht so regelmäßig vor sich, wie man es rein rechnerisch hätte erwarten können, sondern man fand z. B. bei einem Titer der Einzelprobe von 1 : 80 1mal in den einzelnen Verdünnungen einen Titer von 1 : 40, 1 : 20, 1 : 10, 1 : 5, also eine regelmäßige Abnahme, ein anderes Mal wurden in den aufsteigenden Verdünnungen Titer von 1 : 40, 1 : 40, 1 : 20, 1 : 5 gefunden, also ein mehr oder weniger unregelmäßiger Abfall. Es ist anzunehmen, daß durch Vermengung einer positiven Milch mit einer oder mehreren negativen Milchproben die agglutinierenden Eigenschaften des positiven Milchserums gefördert oder gehemmt werden können. Immer aber war der Titer der 2—10fach verdünnten Milchprobe bedeutend niedriger als bei der Einzelprobe.

Bei der kulturellen Untersuchung von Rahm und Bodensatz der zentrifugierten Milch wurden ungefähr die gleichen Ergebnisse gefunden wie bei den ersten 53 Milchproben.

Für den Tierversuch wurden auch bei den letzten 53 Milchproben je 2 Meerschweinchen mit der Einzelprobe und je 2 mit der Gruppenprobe, bestehend aus der 10fach verdünnten Einzelprobe, behandelt. Im ganzen konnten 31 (58,5 %) von diesen 53 Einzelmilchproben durch den Tierversuch als brucellenhaltig ermittelt werden. Bei der Untersuchung der Milchprobe Nr. 40 führte der Tierversuch zu keinem Ergebnis, da die Meerschweinchen frühzeitig starben. Diese wurden durch die Kultur als brucellenhaltig ermittelt. Gegenüber den 32 brucellenhaltigen Einzelmilchproben konnte nur bei 9 Gruppenmilchproben der Nachweis von Abortus-Bang-Bakterien durch den Tierversuch geführt werden.

Bei den Untersuchungen konnte allgemein festgestellt werden, daß nicht in jedem Falle beide Meerschweinchen, denen dieselbe Milchprobe injiziert war, in gleicher Weise reagierten, sondern in sehr vielen Fällen reagierte ein Tier positiv, das andere negativ. Diese Tatsache deutet darauf hin, daß die Empfänglichkeit der Meerschweinchen bei der Infektion eine sehr große Rolle spielt. Bei der 10fach verdünnten Milchprobe trat diese Tatsache besonders deutlich in Erscheinung. Von den insgesamt 16 als brucellenhaltig ermittelten Gruppenproben konnten nur in 2 Fällen beide Meerschweinchen als infiziert ermittelt werden, während in den übrigen 14 Fällen jedesmal 1 Meerschweinchen positiv und das andere negativ reagierte.

In der Tabelle V werden die Ergebnisse der Schnellagglutination bei der serologischen Untersuchung der 106 Einzelproben gegenübergestellt der Serumlangsamagglutination derselben Proben.

Tabelle V.

Langsamagglutination	Zahl der Einzelproben	Schnellagglutination			
		–	±	+	++
bis 1 : 5	9	—	9	—	—
1 : 10	1	—	1	—	—
1 : 20	9	—	7	2	—
1 : 40	24	—	16	8	—
1 : 80	32	—	2	28	2
über 1 : 80	31	—	—	12	19

In der Tabelle VI werden die Ergebnisse der Schnellagglutination bei der serologischen Untersuchung von 4×106 Gruppenproben zu je 2—10 Milchproben mit der Langsamagglutination verglichen.

Tabelle VI.

Langsamagglutination	Zahl der Gruppenproben	Schnellagglutination			
		–	±	+	++
unter 1 : 5	135	133	2	—	—
1 : 5	18	10	8	—	—
1 : 10	62	28	34	—	—
1 : 20	84	—	83	1	—
1 : 40	77	—	52	25	—
1 : 80	35	—	4	31	—
über 1 : 80	13	—	—	11	2

In der Tabelle VII sind die Ergebnisse des Tierversuches und der Züchtung aus der Milch den einzelnen Milchserumtitern der Einzelmilchproben gegenübergestellt.

Tabelle VII.

Milchserumtiter	Zahl der Einzelproben	Tierversuch			Kultur		
		negativ	positiv	% +	negativ	positiv	% +
bis 1 : 5	9	9	0	0	9	0	0
1 : 10	1	1	0	0	1	0	0
1 : 20	9	8	1	11,1	8	0	0
1 : 40	24	19	5	20,5	24	0	0
1 : 80	32	11	21	65,9	25	7	21,9
über 1 : 80	31	4	27	87,1	20	11	35,5

Tabelle VIII.

Vergleich des Blutserumtiters von 53 infizierten Milchkühen mit dem Ergebnis des Tierversuches und der kulturellen Züchtung aus Rahm und Bodensatz der entsprechenden Milchproben.

Blutserum-titer	Zahl der Blut-proben	Tierversuch			Kultur		
		negativ	positiv	% +	negativ	positiv	% +
unter 1 : 50	1	1	0	0	1	0	0
1 : 50	1	1	0	0	1	0	0
1 : 100	1	1	0	0	1	0	0
1 : 200	9	4	5	55,5	8	1	11,1
1 : 400	14	9	5	35,72	12	2	14,3
1 : 800	12	4	8	66,6	7	5	41,6
1 : 1600	11	1	10	90,9	6	5	45,4
1 : 3200	4	0	4	100,0	3	1	25,0

Aus diesen letzten Tabellen geht hervor, daß die Untersuchung von Einzelproben der Untersuchung von Gruppenproben an Sicherheit bedeutend überlegen ist, ja, daß die Untersuchung von 5- und 10fach verdünnten Proben sowohl serologisch, als auch kulturell und im Tierversuch nur noch in relativ wenigen Fällen ein positives Ergebnis hatte. Bei der serologischen Untersuchung von Einzelproben konnte in 97 (= 91,5 %) Fällen ein positives Resultat erzielt werden, während bei der serologischen Untersuchung von 4 mal 106 Gruppenproben, die durch 2-, 3-, 5- und 10faches Verdünnen der verdächtigen Einzelprobe hergestellt worden waren, nur in 721 (= 63,9 %) Fällen ein positives Ergebnis festgestellt wurde. Die 153 negativen Fälle setzten sich in der Mehrzahl, nämlich zu 107 aus den negativen Ergebnissen der 5- und 10fachen Einzelprobenverdünnung zusammen.

Noch größer waren die Unterschiede bei der Züchtung aus der Milch. Bei der Untersuchung der 106 Einzelproben wurden insgesamt 22 mal die Bakterien direkt aus Rahm und Bodensatz gezüchtet. Bei der 2fach verdünnten Milch gelang die Züchtung nur noch in 12 Fällen, bei der 3fach verdünnten in 6 und bei der 5fach verdünnten nur in 3 Fällen. Bei der Züchtung der Bang-Bakterien aus der 10fach verdünnten Milchprobe konnte in keinem Falle ein positives Resultat erzielt werden.

Auch der Tierversuch erwies sich bei der Untersuchung von Sammelmilchproben als unzuverlässig. Bei 56 Einzelproben konnte durch Tierversuch bezw. Kultur der Brucellennachweis geführt werden. Dagegen ließen sich nur 16 (= 28,6 %) der entsprechenden Gruppenmilchproben als brucellenhaltig ermitteln. Durch die 10fache Verdünnung der brucellenhaltigen Einzelmilchproben wird die Sicherheit, die Brucellen durch bakteriologische Methoden zu erfassen, um 71,4 % herabgedrückt.

E. Gesamtergebnis.

I. Serologische Milchuntersuchung.

Die Frischmilchschnellagglutination hatte bei den Einzelmilchproben von 106 Kühen ein positives Ergebnis. Die Serumlangsamagglutination dieser Milchproben ergab in 9 Fällen einen Titer von 0 bis 1 : 5. Eine Milchprobe zeigte einen Agglutinationstiter von 1 : 10, 9 einen solchen von 1 : 20, 24 von 1 : 40, 32 von 1 :80 und 31 einen Titer von über 1 : 80. In den künstlich durch 2-, 3-, 5- und 10fache Verdünnung der verdächtigen Einzelproben mit einwandfreier Mischmilch hergestellten Gruppenproben nahm sowohl die Stärke der Reaktion bei der Frischmilchschnellagglutination als auch die Höhe des Endtiters bei der Serumlangsamagglutination mit der Höhe der Verdünnungen der Einzelmilchprobe ziemlich gleichmäßig ab. Die 43 Milchproben, die als Einzelmilchproben einen Titer von 1 : 5 bis 1 : 40 zeigten, waren in der zehner Gruppenprobe sämtlich negativ. Von den 32 Proben, die als Einzelprobe einen Titer von 1 : 80 zeigten, waren bei der serologischen Untersuchung der zehner Gruppenprobe 18 negativ, während 6 einen Titer von 1 : 5 und 8 einen solchen von 1 : 10 aufwiesen. Von den 31 Milchproben mit einem Titer über 1 : 80 reagierten in der 10fach verdünnten Probe 2 negativ, 3 zeigten einen Titer von 1 : 5, 8 einen Titer von 1 : 10, 12 einen Titer von 1 : 20, 6 einen solchen von 1 : 40.

Tabelle IX.

Darstellung der gleichmäßigen Abnahme der positiven Ergebnisse in den einzelnen Verdünnungen.

Serumlangsamagglutination.				
Zahl der positiven Einzelproben	Zahl der positiven Proben			
	in der 2fach. Verdünnung	in der 3fach. Verdünnung	in der 5fach. Verdünnung	in der 10fach. Verdünnung
97 = 100 %	96 = 98,9 %	83 = 85,5 %	62 = 63,9 %	30 = 30,9 %

Durch die serologische Untersuchung läßt sich nach Vermengung der gleichen Menge einer positiv reagierenden mit einer negativ reagierenden Milch noch zu 98,9 %, also ziemlich sicher, der Brucellennachweis führen. Werden jedoch Gruppenproben

mit der Milch von 3, 5 oder 10 Kühen gebildet, von welchen eine brucelleninfiziert ist, so nimmt die Sicherheit, die Brucelleninfektion durch die serologische Untersuchung der Gruppenmilchen nachzuweisen, in steigendem Maße mit der Größe der Gruppe ab. Bei einer Gruppenmilch von 10 Kühen beträgt die Sicherheit nur noch 30,9 %. Eine große Zahl der Brucelleninfektionen wird durch die serologische Untersuchung von Gruppenproben nicht zu erfassen sein. Dieses Ergebnis war durch rein rechnerische Überlegung von vornherein zu erwarten; doch im Vergleich mit ähnlichen Ergebnissen des Tier- und Kulturversuches mag ein besonderer Hinweis hierauf berechtigt sein.

II. Tierversuch.

Von den 106 untersuchten Milchproben wurden durch den Tierversuch und die Kultur aus Rahm und Bodensatz 56 als brucellenhaltig ermittelt. Der Tierversuch lieferte in 53 Fällen ein positives Ergebnis. In den restlichen3 Fällen führte der Tierversuch nicht zum Ziele, da die Meerschweinchen vorzeitig eingingen. Diese wurden durch die kulturelle Züchtung allein ermittelt. Von den 10fach verdünnten Milchproben wurden insgesamt 16 als brucellenhaltig festgestellt, das sind 28,6 % der bei den Einzelmilchproben ermittelten brucellenhaltigen Proben.

Insgesamt wurden 424 Meerschweinchen in den Versuch genommen, und zwar für jede Einzelprobe je 2 und für jede Zehner-Gruppenprobe je 2. Von diesen 424 Versuchstieren starben während der sechswöchentlichen Beobachtungszeit 76. 9 mal starben bei der Einzelprobe beide Versuchstiere und 6 mal bei der Gruppenprobe. In 3 Fällen konnten nach einer Versuchsdauer von 3 bezw. 4 Wochen bei den eingegangenen Meerschweinchen mit der Methode nach F l e i s c h h a u e r Agglutinine im Herzblut festgestellt werden. Ebenso hatte die Züchtung der Bakterien aus Milz und Lymphknoten in diesen Fällen ein positives Ergebnis. Von den Versuchstieren, die mit den 53 brucellenhaltigen Einzelmilchproben geimpft waren, zeigten in 38 Fällen beide Versuchstiere eine positive Infektion, während in den restlichen 15 Fällen 11 mal das eine Meerschweinchen negativ reagierte und in 4 Fällen das Versuchstier eingegangen war. Von den insgesamt 16 positiven Gruppenmilchproben konnten nur in 2 Fällen beide Meerschweinchen als infiziert ermittelt werden, während in den übrigen 14 Fällen jedesmal ein Meerschweinchen positiv, das andere negativ reagierte.

Innerhalb des Tierversuches wurden bei jedem Meerschweinchen 3 Methoden zur Diagnosestellung in Anwendung gebracht:

1. serologische Blutuntersuchung.
2. Kultur der Brucellen aus Milz, Leber und Lymphknoten.
3. Sektionsbefund.

Tabelle X zeigt die Ergebnisse der 3 verschiedenen Methoden bei den einzelnen Versuchstieren.

Tabelle X.

Gesamtzahl der infizierten Tiere	Davon reagierten positiv: serolog.	kulturell: Milz	kulturell: Lymphknoten	kulturell: Leber	pathologisch anatomisch
109	76	86	63	0	38

Bei den 109 Meerschweinchen ergab in 76 Fällen die serologische Untersuchung ein positives Ergebnis, 86 mal die Kultur aus der Milz, 63 mal die Kultur aus den Lymphknoten. Die Züchtung der Brucella abortus aus der Leber gelang in keinem Falle. Der Sektionsbefund ließ in 38 Fällen auf eine Infektion der Versuchstiere mit Abortus-Bang-Bazillen schließen. 19 Tiere wiesen stecknadelkopfgroße, gelbliche Herde in der Leber auf, 22 Versuchstiere zeigten Lymphknotenschwellungen. Bei 29 Meerschweinchen wurde eine Vergrößerung der Milz um das 1½- bis 4fache festgestellt. Bei einem Versuchstier war es zur Abszeßbildung an Hoden und Nebenhoden gekommen.

III. Kultur.

Die Züchtung der Abortus-Bang-Bakterien aus dem Rahm und Bodensatz der zentrifugierten Einzelmilchproben gelang in 23 Fällen, aus der 2fach verdünnten Probe 12 mal, aus der 3fach verdünnten 7 mal, aus der 5fach verdünnten 4 mal. Die Züchtung der Bang-Bakterien aus der 10fach verdünnten Milchprobe hatte in allen Fällen ein negatives Ergebnis. Die Züchtung der Brucellen erfolgt in einer Leuchtgasatmosphäre, und zwar auf Rinderserumglycerinagar, dem 0,00075 % Malachitgrün und ebenso viel Gentianaviolett zugesetzt war. Beim Vergleich der Ergebnisse der kulturellen Milchuntersuchungen ergibt sich, daß auch hierbei die Einzelmilchuntersuchung die beste Gewähr für den sicheren Nachweis von Brucella abortus bietet.

F. Schlußsätze.

1. Von 106 Milchkühen, deren Milch bei der Frischmilchschnellagglutination und Serumlangsamagglutination Brucellaagglutinine aufwies, wurden durch die direkte Kultur aus der Milch und durch den Meerschweinchenversuch 56 Tiere ermittelt, die den Erreger des seuchenhaften Verkalbens mit der Milch ausschieden.
2. Durch den Tierversuch gelang der Brucellennachweis in 53 dieser 56 Fälle, in den restlichen 3 Fällen, die durch direkte Kultur aus der Milch diagnostiziert wurden, führte der Tierversuch wegen vorzeitigen Todes der betreffenden Meerschweinchen zu keinem Resultat.
3. Bei der Untersuchung von Gruppenmilchproben ist der Tiersuch unzuverlässig. Er führte bei der Untersuchung der Gruppenmilchproben, die durch Vermengung jeder einzelnen der 106 untersuchten, positiv reagierenden Einzelproben mit je 9 einwandfreien Milchproben hergestellt wurden, nur in 16 Fällen zu einem positiven Ergebnis. In diesen Fällen war auch die entsprechende Einzelprobe im Tierversuch positiv. In 40 Fällen konnte also der Nachweis von Brucellen in den Gruppenmilchproben nicht geführt werden, obgleich brucelleninfizierte Einzelproben darin enthalten waren.
4. Die Züchtung der Bang-Bakterien aus dem Rahm und Bodensatz der Einzelmilchproben gelang in 23 Fällen, aus der Gruppenmilch von 2 Kühen 12 mal, aus der Gruppenmilch von 3 Kühen 7 mal, aus der Gruppenmilch von 5 Kühen 4 mal. Die Züchtung aus der Gruppenmilch von 10 Kühen hatte in keinem Falle Erfolg.
5. Die Frischmilchschnellagglutinationsmethode arbeitet auch bei der Untersuchung von Gruppenproben in dem gleichen Sinne wie die Serumlangsammethode. Die Stärke der Ausflockung nimmt mit der Höhe der Verdünnung ab.
6. Die Höhe des Titers bei der Serumlangsammethode nimmt mit zunehmender Verdünnung der positiv reagierenden Milchprobe ziemlich gleichmäßig ab. Von den 97 Milchproben, die bei der Serumlangsamagglutination als Einzelprobe positiv waren, waren in der 10fach verdünnten Probe nur noch 38 positiv.
7. Die Untersuchung von Sammelmilchproben, besonders der 10fachen Gruppenprobe, ist unzuverlässig. Es wird auf diese Weise nur ein geringer Teil derjenigen Tiere erfaßt, die den Erreger des seuchenhaften Verkalbens mit der Milch ausschei-

den. Die serologische Untersuchung der Gruppenmilch von 10 Kühen, von welchen eine eine Brucelleninfektion des Euters aufweist, bietet nach vorliegenden Untersuchungsergebnissen nur 30,9 % Sicherheit dafür, daß die Ausscheiderin erfaßt wird. Die Sicherheit, den Brucellennachweis durch den Tierversuch in Gruppenmilchproben zu führen, ist gegenüber der Einzelmilchprobenuntersuchung ebenso gering und beträgt bei meinen Untersuchungen 28,6 %. Noch unzuverlässiger ist die kulturelle Untersuchung der Gruppenmilch von 10 Kühen. In keinem Falle ließen sich Brucellen durch die Kultur feststellen, in Einzelproben dagegen in 23 Fällen.

8. Die Untersuchung von Gruppenmilchproben auf Brucella abortus Infektion durch die serologische und kulturelle Methode und durch den Tierversuch ist in ihren Erfolgen als unzureichend anzusehen, da hierdurch nur etwa 30 % der brucelleninfizierten Kühe ermittelt werden können.
9. Nur auf dem Wege der Einzelmilchproben-Untersuchung gelingt es, in Milchviehbeständen die größtmögliche Zahl der brucelleninfizierten und brucellenausscheidenden Kühe zu erfassen. Durch die blutserologische Untersuchung können die Ergebnisse weiterhin ergänzt werden.

Am Schlusse meiner Arbeit danke ich Herrn Dr. Eickmann, Direktor des Tiergesundheitsamtes bei der Landesbauernschaft Rheinland, Hauptabteilung II, Bonn, für die Überlassung des Themas und die stets gütige Förderung meiner Arbeit.

Schrifttum.

1. Andersen og Thomsen: Om Forkomsten of Abortbazillen in Handelsmaelk for Kobenhavensk Maelkerien. Saer tryk af Manedskrift for Dyrlaeger. Bd. 41, S. 257 (1929).
2. Ascoli, A.: On Bang's Bacillus. Amer. Vet. Rev. 47, 761 (1913).
3. Derselbe: Technische Winke zur Züchtung des Bang'schen Bazillus. Berl. tierärztl. Wschr. 1913, 301.
4. Bang, B.: Die Aetiologie des seuchenhaften Verwerfens. Z. Tiermed. 1, 242 (1897).
5. Berge R. und Ekrem, A.: Frischmilch-Schnellagglutinationsmethode zur Feststellung von Brucella-Agglutininen. Dtsch. tierärztl. Wschr. 40, 844 (1932).
6. Dieselben: Die Frischmilchschnellagglutinationsmethode zur Diagnose der Brucella-Infektion bei Kühen. Dtsch. tierärztl. Wschr. 1934, 211.
7. Carpenter, C. M.: Brucella abortus in Udders of vaccinated and naturally infected Cattle. Cornell veterinarian, 16, 131 (1926).
8. Derselbe und Parshall, C. J.: A Study of Milk from Cows showing no Agglutinins for Brucella abortus in their Blood Serum. Cornell Veterinarian 17, 234 (1927).
9. Cominotti, L.: Ausscheidung des B. abortus (Bang) durch das Euter bei Kühen nach Impfung mit lebenden Kulturen desselben Bakteriums. Dtsch. tierärztl. Wschr. 39, 465 (1931).
10. Cotton, W. E.: The Persistence of the Bacillus of infectious Abortion in the Tissue of Animals. Am. Vet. Rev. 44, 307 (1913).
11. Diernhofer, K.: Molken, Milchserum- und Milchagglutination als Hilfsmittel zur Feststellung der Brucellabesiedelung des Kuheuters. Wien. tierärztl. Wschr. 20, 97 (1933).
12. Donham, C, R. and Fitch, C. P.: A method for the preparation of antigen for the rapid agglutination test for Bang's Disease with a technic for conduching such test. I. Amer. vet. med. Ass. 82, S. 913—921.
13. Drescher und Hopfengärtner: Die Haltbarkeit des Bang'schen Abortus-Bazillus in Milch und Milchprodukten. Münch. tierärztl. Wschr. 81, 465, 485, 496, 507 und 553 (1930).
14. Ehrlich, K.: Erfahrungen mit verschiedenen diagnostischen Methoden zur Feststellung des seuchenhaften Verkalbens. Dtsch. tierärztl. Wschr. 36, 56 (1928).
15. Eickmann, H. und Söntgen, K.: Eine Methode zur beschleunigten Feststellung des Abortus infectiosus beim Rinde in mikroskopisch und kulturell zweifelhaften Fällen. Dtsch. tierärztl. Wschr. 32, 386 (1924).
16. Evans, A. C.: The Presence of Bacillus Abortus in Milk. Zbl. Bakter. I. Ref. 63, 526 (1915).
17. Fitch, C. P.: The Cultivation of Bacterium Abortus Bang. J. inf. dis. 31, 233 (1922).
18. Derselbe und Lubbehusen, R. E.: A Study of the Presence of Bact. abortus in the Milk of Cows which react of the Agglutination Test. Cornell Veterinarian 14, 299 (1924).

19. Fleischhauer, G.: Zum Tierversuch im Rahmen der Feststellung von Abortus-Bang-Bakterien in der Milch. Dtsch. tierärztl. Wschr. 41, 152 (1933).
20. Frisch: Die Leuchtgasmethode zur Züchtung des Bacterium abortus infect. Bang. Dtsch. tierärztl. Wschr. 37, 309 (1929).
21. Gilman, H. L.: The Elimination of Bact. Abortus in the Milk of Cows. Cornell Veterinarian 20, 106 (1930).
22. Derselbe: Further Studies on the Relation of the Milk Agglutination Titre to the Elimination of Bact. Abortus from the Udder of Cows. Cornell Veterinarian 21, 243 (1931).
23. Hasley, D. E.: Brucella abortus in certified Milk. J. inf. dis. 46, 430 (1930).
24. Haupt, H.: Kurze Mitteilung über einen zur Züchtung des Bakt. abortus Bang geeigneten Nährboden. Zbl. Bakter. 120, 130 (1931).
25. Hetz, J.: Untersuchungen über den Nachweis des Bang'schen Abortus-Bazillus in der Milch unter besonderer Berücksichtigung seines Vorkommens in der Stuttgarter Marktmilch. Inaug. Diss. Gießen (1921).
26. Holth, H.: Untersuchungen über die Biologie des Abortus-Bazillus und die Immunitätsverhältnisse des infektiösen Abortus der Rinder. Z. Infkrkh. Haustiere 10, 207 (1911).
27. Hopfengärtner, M.: Der kombinierte Tierversuch zum Nachweis des Bazillus Abortus in Foeten und Eihäuten. Münch. tierärztl. Wschr. 575, 691 (1924).
28. Huddleson, J. F.: The Importance of an increased Carbon Dioxide Tension in growing Bact. abortus (Bang). Cornell Veterinarian 11, 210 (1921).
29. Derselbe: Studies on Infectious Abortion. Zbl. Bakter. J. Ref. 73, 177 (1922).
30. Jaffé, R. H.: Über die experimentelle Infektion der Meerschweinchen mit dem Bac. melitensis (Bruce) und dem Bac. abortus (Bang). Virchows Arch. 238, 119 (1922).
31. Karsten: Über das Vorkommen und den Nachweis von Abortus-Bakterien in der Milch der Kühe. Dtsch. tierärztl. Wschr. 40, 689 (1932).
32. Derselbe: Über die Feststellung des seuchenhaften Verkalbens durch den Nachweis von Agglutininen und komplementablenkenden Ambozeptoren im Milchserum der Kühe. Dtsch. tierärztl. Wschr. 39, 561 (1931).
33. Derselbe und Bischoff: Weitere Untersuchungen über den Abortus-Nachweis in der Milch. Dtsch. tierärztl. Wschr. 38, 593, 596 (1931).
34. Klimmer, M.: Abortus Bang und Milchhygiene. Berl. tierärztl. Wschr. 48, 87 u. 151 (1932).
35. Derselbe und Falke, W.: Wie steht es mit der Milchhygiene. Berl. tierärztl. Wschr. 47, 447 (1931).
36. Derselbe und Haupt, A.: Über die durch das Corynebakterium verursachte Erkrankung des Meerschweinchens. Virchows Arch. 242, 350 (1923).
37. Knoth, M.: Über den indirekten Nachweis der Bang'schen Abortus-Bakterien in der Milch (Sammelreferat). Z. Fleisch- u. Milchhyg. 41, 501 (1931).
38. Köser und Plate: Morphologischer Nachweis der Brucella abortus in der Milch. Dtsch. tierärztl. Wschr. 1934, S. 195.
39. Krage, P.: Über die pathogene Wirkung des Abortus-Bazillus. Zbl. Bakter. I Orig. 57 Beiheft, 304 (1913).
40. Lerche: Versuche zur Abortus-Bang-Infektion des Rindes. Dtsch. tierärztl. Wschr. 37, 680 (1913).
41. Derselbe: Abortus-Bang-Bakterien in Milch und Milchprodukten vom Rind. Z. Infkrkh. Haustiere 38, 253 (1931).

42. Derselbe: Über die Diagnostik und die Bekämpfung des infektiösen Abortus beim Rinde. Tierärztl. Rundsch. 1924, S. 111.
43. Derselbe: Welches Gemelk eignet sich am besten zum Nachweis der Abortus-Bang-Bakterien. Tierärztl. Rundsch. 1932, S. 279.
44. Lourens: Niederschrift über die 6. Sitzung des Comitées des Internationalen Tierseuchenamtes. Berl. tierärztl. Wschr. 1933, S. 335.
45. Meyer, K. F., Shaw, E. W. and Fleischner, E. C.: The Pathogenity of B. melitensis and B. abortus for Guinea-Pigs. J. inf. dis. 31, 159 (1922).
46. Meyer, F.: Sind durch Agglutination und Meinicke-Klärungs-Reaktion des Blutes und der Milch in Abortus-Beständen die euterinfizierten Tiere zu ermitteln? Inaug. Diss. Hannover (1932).
47. Meyn, A. und Weiske, G.: Untersuchung über den Abortus-Bakteriengehalt der Vorzugsmilch einer Großstadt. Z. Fleich- u. Milchhyg. 41, 277 (1931).
48. Ott, H.: Das Agglutinationsverfahren zum Nachweis von Abortus-Bang-Bazillen im Meerschweinchenversuch. Inaug. Diss. Gießen (1933).
49. Olitzki, L. und Gurevitsch, J.: Das Wachstum der Brucellen auf halbfesten Nährböden. Zbl. Bakter. 125, 171 (1932).
50. Pfenninger, W.: Zur Diagnose der Bazillenausscheider in der Milch beim durch Bac. Bang verursachten infektiösen Verwerfen des Rindes. Schwz. Arch. Tierheilkunde 61, 600 (1923).
51. Plate, G.: Der beschleunigte direkte Nachweis der Brucella abortus in der Milch mit Hilfe des Meerschweinchenversuches. Inaug. Diss. Hannover (1933).
52. Derselbe: Die Feststellung von Brucella abortus in der Milch bei der Milchüberwachung. Der Dtsch. tierärztl. Wschr. zum Druck eingereicht.
53. Poppe, K.: Der infektiöse Abortus des Rindes (Bang-Infektion). Hdb. d. Pathog. Mikroorganismen Bd. 6, 2, 693, (1929).
54. Preiß, H.: Der Bazillus des seuchenhaften Verwerfens. Zbl. Bakter. I Orig. 33, 190 (1903).
55. Pröschold, O.: Zum Nachweis von Abortus-Bang-Bakterien in der Milch. Z. Fleisch- u. Milchhyg. 39, 277 (1929).
56. Derselbe: Über die Ermittlung von Rinderbeständen mit Abortus-Infektion durch die Blutuntersuchung der Meerschweinchen, die zum Zwecke des Tuberkelbazillen-Nachweises mit Milch, Uterussekret und Bronchialschleimproben geimpft waren. Dtsch. tierärztl. Wschr. 34, 43 (1926).
57. Derselbe: Die Feststellung der Ausscheidung von Abortus-Bang-Bakterien mit der Milch. Dtsch. tierärztl. Wschr, 42, 673 (1932).
58. Reinhardt, R. und Gauß, K.: Untersuchungen über das Vorkommen von Antikörpern gegenüber dem Bazillus abortus infectiosi im Blut und in der Milch abortuskranker Tiere. Z. Infkrkh. Haustiere 16, 219 (1914/15).
59. Rudolf, J.: Beitrag zur Züchtung des Bazillus Abortus Bang mit Hilfe der Leuchtgasmethode. Dtsch. tierärztl. Wschr. 36, 481 (1928).
60. Rose, W.: Zur Züchtung von Abortus-Bang-Bakterien unter Paraffinverschluß nach Heraustreiben der Luft durch Wärme. Berl. tierärztl. Wschr. 1933, S. 489.
61. Sanderson, E. S. and Rettger, L. F.: Paths of Infektion by Bacterium abortus in Pabbits, Guinea-Pigs and Mice. J. inf. dis. 32, 181 (1923).
62. Scharr: Festsetzung der Agglutinationgrenztiter im Blut- und Milchserum von Kühen und im Blutserum von Meerschweinchen für Abortus-Bang in Markenmilch. Dtsch. tierärztl. Wschr. 38, 596 (1933).
63. Schermer und Ehrlich: Die Immunisierung gegen das seuchenhafte Verkalben (Abortus-Bang). Berl. tierärztl. Wschr. 39, 37 (1923).

64. Schönberg, F.: Über den Nachweis von Abortus-Bang-Bakterien bei der amtlichen tierärztlichen Milchüberwachung. Berl. tierärztl. Wschr. 49, 329 (1933).
65. Schröder und Cotton: An undescribed pathogenic Bakterium in Milk. Amer. Vet. Rev. 40, 195 (1911).
66. Smith, Th. and Fadyean, M.: Über die pathogene Wirkung des Bacillus-Abortus-Bang. Zbl. Bakter. I. Orig. 61, 549 (1912).
67. Schumann und Lerche: Untersuchungen von Gesamt- und Einzelmilchproben auf Abortus-Bang-Bakterien. Dtsch. tierärztl. Wschr. 51, 808 (1930).
68. Stockmayer, W.: Über die Feststellung der Bang-Bakterien in Milchproben mit Hilfe von Elektiv-Nährböden. Zbl. Bakter. 1. Ref. 109, 238 (1933).
69. Wall, S.: Über die Feststellung des seuchenhaften Verwerfens beim Rind durch Agglutination und Komplementbindung. Z. Infkrkh. Haustiere, 10, 23 (1911).
70. Winkler, M.: Über die Ausscheidung des Bazillus abortus Bang mit der Milch. Inaug. Diss. Leipzig (1919).
71. Zeller: Weitere Untersuchungen über das seuchenhafte Verwerfen des Rindes. Arch. Tierheilk. 49, 65 (1922).
72. Zwick, W.: Forschungen über das seuchenhafte Verwerfen der Rinder während der letzten 2 Jahrzehnte. Arb. Reichsgesundh. Amt 57, 360 (1926).
73. Derselbe und Krage: Über die Ausscheidung von Abortus-Bazillen mit der Milch. Berl. tierärztl. Wschr. 29, 41 (1913).
74. Derselbe und Zeller: Über den infektiösen Abortus des Rindes. Berl. tierärztl. Wschr. 28, 836 (1912).
75. Derselbe und Wedemann: Biologische Untersuchungen über den Abortus-Bazillus. Berl. tierärztl. Wschr. 29, 216 (1913).

Lebenslauf.

Johannes Fuest, geboren am 20. Februar 1908 in Dössel. Nach Besuch der Volksschule in Dössel und des Gymnasiums in Warburg erhielt ich am 17. März 1929 das Reifezeugnis. Das Studium der Tierheilkunde begann ich in Hannover, wo ich im März 1931 die tierärztliche Vorprüfung bestand. Im fünften Semester studierte ich an der Tierärztlichen Hochschule in Wien. In den letzten vier Semestern war ich Student der Tierärztlichen Hochschule in Berlin; hier bestand ich am 23. Dezember 1933 die tierärztliche Fachprüfung.